



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI FIRENZE

---

Dottorato di Ricerca in: NEUROSCIENZE

Scuola di Dottorato in: NEUROSCIENZE DI BASE E APPLICATE

Ciclo: XXIII

Settore Scientifico Disciplinare: MED/36

# Quantificazione del Rate Metabolico Cerebrale del Glucosio nella $^{18}\text{F}$ -FDG-PET

Ilaria Freddi

Relatore:  
Prof. Alberto Pupi

Coordinatore del Dottorato:  
Prof. Luca Massacesi

---

Anno Accademico 2010/2011

# Introduzione

Questo lavoro si occuperà di analizzare algoritmi matematici e implementare appositi software utili a fornire metodi pratici di per la creazione di mappe quantitative del rate metabolico cerebrale del glucosio o *Cerebral Metabolic Rate of Glucose* (CMRGlu). Verrà quindi definito un protocollo sperimentale per l'acquisizione ed elaborazione di tali mappe.

L'imaging molecolare e le indagini medico nucleari costituiscono uno strumento molto sensibile per una diagnosi precoce di difetti funzionali nel caso di malattie neurodegenerative. Tra i parametri che si valutano, uno dei principali è sicuramente il metabolismo cerebrale, generalmente indagato con tecnica PET (*Positron Emission Tomography*) impiegando come tracciante il  $^{18}\text{F}$ -Fluoro-Deossi-Glucosio ( $^{18}\text{F}$ -FDG).

Le immagini PET forniscono informazioni funzionali spesso sufficienti per una diagnosi. Per un corretto monitoraggio della progressione della malattia è però spesso indispensabile avere misurazioni *quantitative* che consentano valutazioni comparative con esami precedenti e valutazioni sulla risposta ad una terapia. La quantificazione in medicina nucleare viene generalmente considerata in due accezioni: la *quantificazione fisica*, dove la concentrazione di tracciante in specifiche regioni di interesse (ROI) deve essere stimata in termini assoluti, e la *quantificazione fisiologica*, dove le concentrazioni di attività ottenute al passo precedente sono trasformate in parametri dal significato fisiologico. Nel caso della PET cerebrale con FDG, il parametro di interesse è il CMRGlu.

Per la quantificazione fisica è necessario incorporare nella procedura di quantificazione opportune correzioni per l'attenuazione e lo scatter della radiazione e per l'effetto di volume parziale (PVE). I primi due aspetti sono ormai stati ampiamente studiati e metodi di correzione standard sono disponibili direttamente sulle consolle di tutti i sistemi commerciali. Il PVE, causato dalla limitata risoluzione spaziale delle tecniche di imaging, viene invece spesso trascurato, sebbene la sua entità sia notevole quando la quantificazione riguarda strutture di dimensioni confrontabili con la *Full Width Half Maximum* (FWHM) della *Point Spread Function* (PSF) del sistema.

Il caso di quantificazione fisiologica richiede invece la definizione di *modelli compartimentali* e l'applicazione di metodi di *analisi cinetica* a dati acquisiti in modalità dinamica. I compartimenti sono magazzini ideali del tracciante, del quale rappresentano stati fisiologicamente

distinti, ed interagiscono tra di loro scambiandosi il materiale secondo specifiche *rate constants*. Dal punto di vista matematico, la variazione di concentrazione nei compartimenti viene generalmente descritta da un sistema di equazioni differenziali del primo ordine. Poiché i traccianti sono usualmente somministrati per via endovenosa, il primo compartimento è costituito dal sangue arterioso e la concentrazione plasmatica del tracciante costituisce la cosiddetta *input function*. Poi, il numero di compartimenti necessari per descrivere la cinetica dipende dalla specifica natura chimica e biologica del tracciante. Per il FDG, il modello più semplice deriva da quello originariamente sviluppato da Sokoloff e prevede due compartimenti tissutali: il primo per il deossiglucosio che scambia liberamente col plasma attraverso la barriera ematoencefalica e l'altro per il deossiglucosio che, dopo la fosforilazione, non può essere ulteriormente metabolizzato e rimane intrappolato.

A partire dalla soluzione del sistema di equazioni differenziali, e conoscendo la misura della funzione di input e della curva di *uptake* tissutale, è possibile stimare i valori delle singole rate constants. Questo può essere fatto tramite procedure di fit non lineare che presentano però vari svantaggi, fra cui quello di richiedere metodi iterativi, di mostrare problemi di convergenza a minimi locali e di risentire della presenza del rumore sui dati.

Fortunatamente, la stima di specifiche combinazioni delle rate constants si rivela spesso di maggiore interesse della stima delle costanti stesse. Per la stima di questi *macro-parametri* esistono metodi grafici che riconducono il problema a un fit lineare di punti ottenuti tramite opportune manipolazioni dei dati sperimentali. Nel caso del FDG un approccio di questo tipo è costituito dal *Patlak Plot*. In alternativa, per evitare non solo i fit non lineari, ma anche la necessità di acquisizioni dinamiche, si possono utilizzare approcci *single scan*, quale il *metodo autoradiografico* di Sokoloff. La notevole semplificazione metodologica che esso introduce ha lo svantaggio di basarsi sull'utilizzo di un set di *rate constants* standard, ottenute come stima media su una popolazione di controllo, che fornisce un valore di CMRGlu da correggere, poi, con il dato sperimentale acquisito sul paziente per tener conto delle sue peculiarità fisiologiche.

Qualunque sia l'approccio all'analisi cinetica, risulta comunque chiaro che la prima questione da affrontare è la determinazione della funzione di input. Il campionamento arterioso è il metodo *gold standard*, tuttavia l'invasività e la complessità della procedura hanno spinto verso la ricerca di tecniche alternative, principalmente tese ad ottenere l'input dalle stesse immagini tomografiche tramite l'impiego di ROI tracciate su strutture vascolari presenti entro il campo di vista (principalmente il ventricolo sinistro, l'arco ascendente dell'aorta o le carotidi). La scelta della regione più opportuna si basa su considerazioni pratiche (eventuale necessità di acquisire contemporaneamente l'input ed il tessuto target) e relative alla accuratezza con la quale si determina l'input (presenza di PVE o di spill-in dai tessuti circostanti).

In questa tesi, i concetti generali appena discussi saranno ampliati ed applicati nel caso della quantificazione del CMRGlu tramite indagine PET svolta con FDG.

Capitolo 1: verrà qui illustrato il modello cinetico-compartimentale del tracciante e commentato nei suoi punti critici e, dalle equazioni che ne conseguono, si ricaveranno le espressioni impiegate nei metodi quantitativi proposti da Sokoloff e da Patlak. Si discuteranno, inoltre, i vari approcci alla misura della input function.

Capitolo 2: discuteremo qui il protocollo sperimentale innovativo proposto in questo lavoro di tesi. Esso prevede la determinazione della funzione di input tramite l'impiego di ROI posizionate sull'arco ascendente dell'aorta in immagini PET acquisite sul torace. Sebbene questo approccio alla determinazione dell'input sia segnalato nelle linee guida della Society of Nuclear Medicine americana e sia stato applicato per la quantificazione in lesioni od organi toracici ed addominali, al momento non sembra essere mai stato impiegato nelle indagini PET cerebrali, poichè la distanza tra il distretto cardiaco e quello cerebrale richiede di spostare il campo di acquisizione durante lo scan. Ciò comporta che l'acquisizione di dati cerebrali possa essere eseguita solo dopo diversi minuti dall'iniezione del tracciante, poichè nella prima fase la scansione deve essere condotta sulla regione toracica. Non essendo, quindi, disponibile una completa curva di uptake, non è possibile nè eseguire una completa analisi cinetica, nè verificare sperimentalmente che si sia raggiunto l'equilibrio cinetico necessario per ottenere stime accurate con i metodi di Sokoloff e di Patlak. Questo lavoro di tesi ha, pertanto, lo scopo di valutare la possibilità di impiegare la funzione di input *image derived* ottenuta sull'arco dell'aorta nelle equazioni operazionali di Sokoloff e Patlak per la quantificazione del CMRGlucose. Simulazioni numeriche sono state condotte per valutare l'entità del bias prodotto da questi due metodi ai tempi di acquisizione stabiliti nel protocollo. Dati sperimentali sono stati acquisiti su un gruppo iniziale di 6 pazienti con il tomografo PET Gemini TF (Philips) della Medicina Nucleare Biomolecolare dell'AOU Careggi ed analizzati tramite una nostra implementazione delle equazioni di Sokoloff e di Patlak come plugin del software ImageJ.

Capitolo 3: verranno qui illustrati i risultati e la fattibilità del metodo sarà valutata anche sulla base del confronto dei valori ottenuti per il CMRGlucose con valori misurati da altri autori con metodi *gold standard* e pubblicati in letteratura.

Il lavoro condotto costituisce, naturalmente, un'analisi preliminare delle performances del metodo proposto, ma l'esito positivo riscontrato è comunque significativo ed incoraggia a condurre ulteriori studi mirati ad una vera validazione clinica, entro protocolli sperimentali autorizzati, su popolazioni selezionate e statisticamente significative di pazienti e soggetti normali.

# Indice

<b>Elenco delle figure</b>	<b>3</b>
<b>Elenco delle tabelle</b>	<b>5</b>
<b>1 CMRGlu e sua modellizzazione</b>	<b>7</b>
1.1 CMRGlu e clinica . . . . .	7
1.2 Metabolismo del glucosio e del fluoro-deossi-glucosio . . . . .	8
1.3 Modelli compartimentali . . . . .	9
1.3.1 Modello compartimentale di glucosio e FDG . . . . .	10
1.3.2 Analisi matematica del modello . . . . .	12
1.3.3 Il CMRGlu e la Lumped Constant . . . . .	14
1.4 Metodi di quantificazione del CMRGlu . . . . .	15
1.4.1 Il metodo autoradiografico di Sokoloff . . . . .	16
1.4.2 Il metodo grafico di Patlak . . . . .	18
1.5 Determinazione della Input Function . . . . .	24
1.5.1 Campionamento arterioso . . . . .	24
1.5.2 Funzioni di input Population Based . . . . .	24
1.5.3 Metodi matematici complessi . . . . .	25
1.5.4 Funzioni di input Image Derived . . . . .	25
<b>2 Materiali e metodi</b>	<b>27</b>
2.1 Protocollo di acquisizione . . . . .	27
2.2 Processing dei dati . . . . .	29
2.2.1 Ricostruzione tomografica . . . . .	29
2.2.2 Determinazione della funzione di input image derived . . . . .	29
2.2.3 Analisi con i metodi di Patlak e Sokoloff . . . . .	30
2.3 Simulazioni numeriche . . . . .	34
<b>3 Risultati e discussione</b>	<b>37</b>
3.1 Risultati . . . . .	37

3.1.1	Simulazioni numeriche . . . . .	37
3.1.2	Pazienti . . . . .	45
3.2	Discussione . . . . .	53
<b>Bibliografia</b>		<b>59</b>

# Elenco delle figure

1.1	Struttura delle molecole di glucosio e di FDG. . . . .	8
1.2	Modelli compartimentali di glucosio e FDG. Le concentrazioni e le costanti cinetiche relative al FDG sono indicate con un asterisco, per evidenziare che il loro valore numerico è diverso da quello del glucosio. . . . .	11
1.3	Tipici andamenti della concentrazione plasmatica arteriosa e della concentrazione tissutale nella materia bianca e nella materia grigia dopo l'iniezione di un bolo di FDG (da [1]). . . . .	14
1.4	Generico modello compartimentale considerato nel lavoro di Patlak. . . . .	19
2.1	Illustrazione del protocollo di acquisizione: con tratto continuo sono riportate le parti delle curve di tempo-attività che vengono misurate con la PET in ciascun intervallo temporale. . . . .	28
2.2	ImageJ . . . . .	30
2.3	JPatSok: Il software implementato per la realizzazione delle mappe CMRGlu . . . . .	32
2.4	Sezioni dei volumi di interesse utilizzati per confrontare i valori medi di CMRGlu prodotti dai metodi di Sokoloff e di Patlak sui pazienti esaminati. . . . .	33
2.5	Confronto tra la funzione di input simulata ed il campionamento di una curva reale acquisito su un paziente. . . . .	34
2.6	Curve di uptake cerebrale nella materia grigia (a) e per la materia bianca (b) per i diversi set di costanti cinetiche in Tab. 2.3 e 2.4. . . . .	36
2.7	Concentrazioni nel compartimento dei precursori metabolici di FDG non legato ( $C_E(t)$ ) ed FDG metabolizzato ( $C_M(t)$ ) per i diversi set di costanti cinetiche in Tab. 2.3 e 2.4. . . . .	36
3.1	GMrecGM: andamento nel tempo delle stime di $K_i$ ottenute col metodo di Sokoloff per i 6 modelli di GM (Tab. 2.3, riportati sopra ciascun grafico) impiegando nella (1.22) tutti i set di costanti della GM (Tab. 2.3). . . . .	39

3.2	WMrecWM: andamento nel tempo delle stime di $K_i$ ottenute col metodo di Sokoloff per i 6 modelli di WM (Tab. 2.4, riportati sopra ciascun grafico) impiegando nella (1.22) tutti i set di costanti della WM (Tab. 2.4). . . . .	39
3.3	WMrecGM: andamento nel tempo delle stime di $K_i$ ottenute col metodo di Sokoloff per i 6 modelli della WM (Tab. 2.4, riportati sopra ciascun grafico) impiegando nella (1.22) tutti i set di costanti della GM (Tab. 2.3). . . . .	40
3.4	GMrecWM: andamento nel tempo delle stime di $K_i$ ottenute col metodo di Sokoloff per i 6 modelli di GM (Tab. 2.3, riportati sopra ciascun grafico) impiegando nella (1.22) tutti i set di costanti della WM (Tab. 2.4). . . . .	40
3.5	Illustrazione della relazione tra il bias riscontrato sulla stima di $K_i$ ottenuta col metodo di Sokoloff e la differenza del valore di $V_2$ delle costanti utilizzate dal valore vero. . . . .	42
3.6	Bias su $K_i$ in funzione del bias su $V_2$ a 35 min per il modello REIV85-3, impiegando nel metodo di Sokoloff diversi range di valori per $K_1$ e $k_2 + k_3$ . A sinistra: $K_1 = (0.045 - 0.165)$ e $k_2 + k_3 = (0.097 - 0.347)$ ; a destra $K_1 = (0.088 - 0.110)$ e $k_2 + k_3 = (0.112 - 0.332)$ . . . . .	43
3.7	Patlak Plot per tutti i set di costanti simulati per la materia grigia e per la materia bianca. . . . .	44
3.8	Mappe parametriche di CMRGlu ( $\mu\text{mol}/100\text{g}/\text{min}$ ) ottenute col metodo di Sokoloff (sinistra) e col metodo di Patlak (destra) su uno dei pazienti. La mappa riportata per il metodo di Sokoloff è stata ottenuta utilizzando il set di costanti REIV85-3 ( $k_4 = 0$ ) ed un unico frame PET di 20 min. . . . .	46
3.9	Mappe metaboliche dei tre pazienti esemplificativi (ricostruite col metodo di Sokoloff, REIV85-3GM). . . . .	47
3.10	Correlazione lineare tra le stime di CMRGlu ottenute con i metodi di Sokoloff e di Patlak. Riportiamo i risultati per tutte le 14 ROI analizzate e per tutti i 6 pazienti. . . . .	50
3.11	Correlazione tra le stime di CMRGlu ottenute con i metodi di Sokoloff e di Patlak. In blu sono riportate le stime del CMRGlu nella GM dei pazienti 1-5, in rosso i punti della GM del paziente in coma ed in giallo i punti relativi alla WM di tutti i pazienti. La regressione è condotta sui soli punti blu. . . . .	51
3.12	Correlazione tra le stime di CMRGlu (in ordinata) e l'intercetta ( $V_0 + V_p$ , in ascissa) ottenute con il metodo di Patlak per le 14 ROI nei 6 pazienti analizzati. In giallo, le stime per la WM ed in blu quelle della GM. . . . .	53
3.13	Valori di CMRGlu nella materia grigia misurati in [2] con analisi cinetica completa (KIN), metodo di Sokoloff (ARG) e metodo di Patlak (PAT) a partire da funzione di input ottenuta con prelievi arteriosi. . . . .	54



# Elenco delle tabelle

2.1	Schema riassuntivo dei frame PET dinamici impiegati nelle tre fasi del protocollo di acquisizione. . . . .	28
2.2	Volumi medi e standard deviation delle 14 regioni di interesse prese in esame. . .	33
2.3	Costanti cinetiche riportate in letteratura per la materia grigia. . . . .	35
2.4	Costanti cinetiche riportate in letteratura per la materia bianca. . . . .	35
3.1	Stime delle $K_i$ della GM ottenute, a 35 min, con il metodo di Sokoloff e le costanti cinetiche della GM (Tab. 2.3). E'riportato anche il bias percentuale rispetto al valore vero. . . . .	37
3.2	Stime delle $K_i$ della WM ottenute, a 35 min, con il metodo di Sokoloff e le costanti cinetiche della WM (Tab. 2.4). E'riportato anche il bias percentuale rispetto al valore vero. . . . .	38
3.3	Stime delle $K_i$ della WM ottenute, a 35 min, con il metodo di Sokoloff e le costanti cinetiche della GM (Tab. 2.3). E'riportato anche il bias percentuale rispetto al valore vero. . . . .	38
3.4	Stime delle $K_i$ della GM ottenute, a 35 min, con il metodo di Sokoloff e le costanti cinetiche della WM (Tab. 2.4). E'riportato anche il bias percentuale rispetto al valore vero. . . . .	38
3.5	Stime delle $K_i$ di GM e WM ottenute con il metodo di Patlak per fit lineari applicato negli intervalli 25-45 min, 45-65 min e 65-85 min. Per ogni stima è riportato anche il bias percentuale rispetto al valore vero. . . . .	44
3.6	Stime dell'intercetta $V_0$ di GM e WM ottenute con il metodo di Patlak per fit lineari applicato negli intervalli 25-45 min, 45-65 min e 65-85 min. Per ogni stima è riportato anche il bias percentuale rispetto al valore vero. . . . .	45
3.7	Valori del CMRGlu (media e standard deviation) nelle 14 ROI per il Pz. 1 stimati con il metodo di Patlak e con il metodo di Sokoloff per tutte le costanti di Tab. 2.3. Questo caso rappresenta un esempio di valori che il protocollo quantitativo proposto può fornire per soggetti sani. . . . .	48

3.8	Valori del CMRGlu (media e standard deviation) nelle 14 ROI per il Pz. 2 stimati con il metodo di Patlak e con il metodo di Sokoloff per tutte le costanti di Tab. 2.3. Questo caso rappresenta un esempio di valori che il protocollo quantitativo proposto può fornire per uno stato avanzato della malattia neurodegenerativa. . . . .	48
3.9	Valori del CMRGlu (media e standard deviation) nelle 14 ROI per il Pz. 6 stimati con il metodo di Patlak e con il metodo di Sokoloff per tutte le costanti di Tab. 2.3. Questo caso illustra i valori che il protocollo quantitativo proposto può fornire per valori di metabolismo estramente basso (coma). . . . .	49
3.10	Valori medi e standard deviation dell'intercetta valutata per le 14 ROI nei 6 pazienti. E'riportato anche il valor medio nella materia grigia. . . . .	52

# Capitolo 1

## CMRGlu e sua modellizzazione

Fin dalla sua introduzione nella pratica clinica, la PET è stata associata all'utilizzo del Fluoro-Deossi-Glucosio (FDG), un analogo del glucosio che consente l'imaging del metabolismo glicolitico, di estrema utilità per l'identificazione di diversi tipi di demenza, ma anche nella valutazione della vitalità miocardica e con una elevatissima sensibilità nell'identificazione di tumori maligni [3].

Nonostante nel corso degli anni siano stati sviluppati nuovi traccianti PET per superare i limiti intrinseci di idoneità clinica del FDG [4], tuttora gli esami con FDG costituiscono la percentuale maggiore di tutte le indagini PET svolte a livello mondiale. La sintesi del FDG nel 1978 da parte di Ido et al. [5] può essere quindi considerata la tappa fondamentale dello sviluppo e della diffusione della PET clinica.

In questo capitolo discuteremo brevemente l'utilità della FDG-PET in neurologia, settore a cui il presente lavoro si rivolge; quindi descriveremo le differenze tra il metabolismo del glucosio e quello del FDG, grazie alle quali questa molecola consente di “fotografare” il metabolismo dei tessuti. Introduciamo quindi il modello compartimentale del FDG e da esso deriveremo le equazioni che ne descrivono la cinetica e che, opportunamente manipolate, consentono la stesura di semplici formule operative per la quantificazione del *Cerebral Metabolic Rate of Glucose* (CMRGlu).

### 1.1 CMRGlu e clinica

L'imaging PET con FDG ha un ruolo fondamentale nella valutazione delle malattie neurodegenerative ed in particolare per la diagnosi differenziale tra vari tipi di demenze. Pattern caratteristici di riduzione del CMRGlu sono stati individuati per morbo di Alzheimer (Alzheimer Disease, AD), la demenza a corpi di Levy (Dementia with Levy Body, DLB) e la demenza frontotemporale (Frontotemporal Dementia, FTD) [6–8]. Nell'AD l'ipometabolismo si manifesta tipicamente a livello del cingolo posteriore, nella corteccia parietotemporale e, negli stadi

avanzati, nel lobo frontale. I pazienti FTD presentano, invece, ipometabolismo nella corteccia frontale ad anterotemporale. Infine, nella DLB l'ipometabolismo coinvolge soprattutto la parte posteriore del cervello e principalmente le regioni parieto-occipitali. Tra queste patologie, l'AD rappresenta circa il 50-60% delle demenze, mentre DLB e FTD rappresentano circa il 15-20% dei casi. In questo panorama, non tanto la PET, quanto la "PET quantitativa", capace di fornire un valore numerico per il metabolismo cerebrale, costituisce lo strumento chiave. Solo uno strumento quantitativo consente, infatti, di valutare lo stadio e la progressione di una malattia e può costituire, inoltre, un biomarker negli studi clinici che valutino l'efficacia di un trattamento [9].

Il parametro fisiologico che la PET quantitativa misura è il cosiddetto *Cerebral Metabolic Rate of Glucose* (CMRGlu). In soggetti normali, i valori tipici in stato di riposo sono dell'ordine di 40-60  $\mu\text{mol}/100\text{g}/\text{min}$  (da intendersi come  $\mu\text{mol}$  di glucosio consumate in 100 g di tessuto al minuto) nella materia grigia (Gray Matter, GM) e 10-15  $\mu\text{mol}/100\text{g}/\text{min}$  nella materia bianca (White Matter, WM). Tra regione e regione si osservano comunque delle differenze, con i valori più alti raggiunti negli striati e nella corteccia parietale vicino al solco parieto-occipitale. Alcune strutture cerebrali filogeneticamente più antiche, quali la corteccia mediale temporale ed il cervelletto, hanno rate metabolico inferiore alla GM, ma comunque superiore alla WM normale. Con l'avanzare dell'età si assiste ad una moderata riduzione del CMRGlu che si manifesta principalmente nella corteccia associativa frontale.

## 1.2 Metabolismo del glucosio e del fluoro-deossi-glucosio

In questo paragrafo discutiamo brevemente le caratteristiche chimiche della molecola di FDG, una molecola di glucosio "marcato" e riconoscibile che consente l'imaging PET del consumo di glucosio.

Come illustrato in Fig. 1.1, la differenza tra il glucosio ed il FDG consiste nella sostituzione del gruppo ossidrilico presente nel glucosio in posizione 2 con un atomo di fluoro. Nonostante questa sostituzione, anche il FDG può entrare nel ciclo della glicolisi [10] ed essere trasportato dentro la cellula dove, esattamente come il glucosio, viene fosforilato dall'enzima esokinasi,

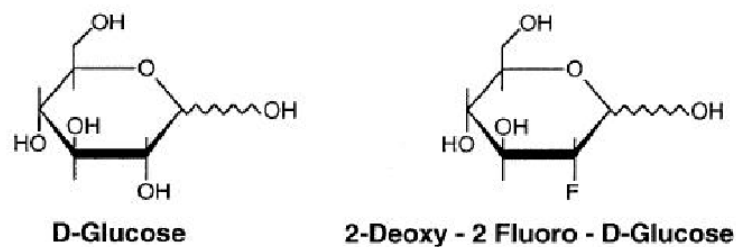


Figura 1.1: Struttura delle molecole di glucosio e di FDG.

producendo FDG-6-fosfato. Il successivo step della glicolisi, che per il glucosio prevede la conversione da glucosio-6-fosfato a fruttosio-6-fosfato, consiste in un riarrangiamento dei gruppi carbonili dalla posizione C-1 alla C-2. Poiché questo passo richiede la presenza di un atomo di ossigeno nella posizione C-2, esso non può evidentemente realizzarsi per il FDG. Il FDG-6-fosfato resta pertanto intrappolato nella cellula, poiché anche la reazione inversa (da FDG-6-fosfato a FDG) è limitata dalla bassa concentrazione dell'enzima necessario, la glucosio-6-fosfatasi.

Incorporare nella molecola di FDG di un isotopo radioattivo del fluoro, quale il  $^{18}\text{F}$ , emettitore  $\beta^+$ , consente quindi di visualizzare con la tecnica PET le regioni in cui è presente una elevata attività glicolitica, come ad esempio, il cervello, il muscolo cardiaco o le cellule tumorali.

L'idea di impiegare il deossi-glucosio radioattivo per l'imaging metabolico è stata introdotta da Sokoloff nel 1977 [11] e validata impiegando glucosio marcato con  $^{14}\text{C}$  in esperimenti autoradiografici sul ratto albino. Il primo studio FDG-PET su esseri umani è invece quello di Phelps del 1979 [12]. A questi autori va anche il merito di aver riformulato in termini matematici quanto appena descritto con termini chimici, introducendo, così, il modello compartimentale del FDG.

### 1.3 Modelli compartimentali

In farmacocinetica, una branca della farmacologia dedicata allo studio della distribuzione nel tempo di una sostanza all'interno di un organismo, si è soliti definire come *compartimenti* dei magazzini ideali della sostanza in studio. Questi compartimenti, identificabili nello spazio o nel tempo e, per definizione, omogenei, sono dei sottosistemi macroscopici collegati tra di loro che rappresentano la distribuzione del farmaco. Essi possono essere individuabili come strutture anatomiche (ad es. muscolo, cuore, fegato, sangue etc.), ma spesso vari tipi di tessuti vengono raggruppati nello stesso compartimento in conseguenza alle loro simili caratteristiche in termini di distribuzione del farmaco, per le quali essi risultano tra loro indistinguibili.

Più in generale, comunque, un compartimento è diverso da un volume fisico: se una sostanza è presente in un sistema biologico in diverse forme e locazioni, allora tutta la sostanza in una particolare forma, o tutta la sostanza in una particolare locazione, o tutta la sostanza in una particolare forma e locazione possono costituire un compartimento. È anche possibile che più compartimenti coesistano nella stessa locazione.

L'approccio compartimentale assume poi che esista un processo fisiologico che guida lo scambio di materiale tra i compartimenti, che così interagiscono tra di loro, oltre che con l'ambiente esterno. La teoria matematica che descrive questi sistemi è detta analisi compartimentale ed il funzionamento di un compartimento è descritto da equazioni di bilancio di massa, la cui forma

generale è:

$$\frac{dA_i}{dt} = R_{i0} + \sum_{j \neq i}^n R_{ij} - \sum_{j \neq i}^n R_{ji} - R_{0i}, \quad (1.1)$$

dove  $A_i$  è la quantità di sostanza nel compartimento  $i$ ,  $\sum_j R_{ij}$  è la somma dei rate di trasferimento di massa verso  $i$  da tutti gli altri compartimenti  $j$ ,  $\sum_j R_{ji}$  la somma dei rate di trasferimento da  $i$  agli altri compartimenti ed  $R_{i0}$  e  $R_{0i}$  sono i flussi verso/dal compartimento da/verso l'ambiente esterno. I trasferimenti  $R_{ij}$ , che per definizione non possono essere negativi, possono avvenire sia per trasporto fisico da una locazione ad un'altra che per reazioni chimiche. In entrambi i casi, i rates di trasferimento dipendono dalla concentrazione della sostanza nel compartimento in ingresso,  $A_j$ , eventualmente elevata ad una potenza  $m$  che costituisce l'*ordine* della cinetica. Per una cinetica del primo ordine, come generalmente si riscontra nell'ambito della cinetica dei traccianti,  $m = 1$ , e quindi

$$R_{ij} = R_{ij}(A_j). \quad (1.2)$$

La dipendenza da  $A_j$  può essere lineare o non lineare. Due tipi di dipendenza che ricorrono frequentemente sono:

- Dipendenza lineare :  $R_{ij} = k_{ij}A_j$ , dove  $k_{ij}$  è una costante che definisce il rate di trasferimento da  $j$  a  $i$ ;
- Michaelis-Menten:  $R_{ij} = \alpha_{ij}A_j/(\beta_{ij} + A_j)$ , dove  $\alpha_{ij}$  è il valore di saturazione del flusso e  $\beta_{ij}$  è il valore di  $A_j$  a cui  $R_{ij}$  raggiunge la metà del suo valore massimo.

I modelli compartimentali consentono di studiare la distribuzione di qualsiasi farmaco. Se il farmaco è marcato con un isotopo radioattivo allo scopo di poterne seguire la distribuzione nel sistema biologico, allora è necessario che esso sia somministrato in quantità *traccia*, cioè sufficientemente piccola da non perturbare i processi fisiologici e le interazioni molecolari. In tal caso, la dipendenza di  $R_{ij}$  da  $A_j$  diviene necessariamente lineare.

Un'altra ipotesi alla base del metodo dei traccianti è che esista un mescolamento istantaneo del tracciante all'interno dei compartimenti, ovvero che la concentrazione diventi in essi immediatamente omogenea. In caso contrario, si rende necessario l'utilizzo di modelli distribuiti più complessi.

### 1.3.1 Modello compartimentale di glucosio e FDG

I modelli compartimentali di glucosio e FDG sono rappresentati in Fig. 1.2.

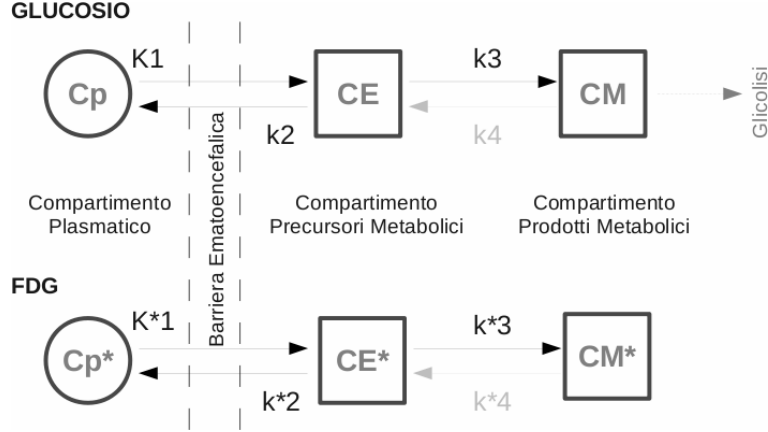


Figura 1.2: Modelli compartimentali di glucosio e FDG. Le concentrazioni e le costanti cinetiche relative al FDG sono indicate con un asterisco, per evidenziare che il loro valore numerico è diverso da quello del glucosio.

Attraversando la barriera ematoencefalica (Blood Brain Barrier, BBB) queste sostanze passano dal primo compartimento, costituito dal sangue<sup>1</sup>, ad un primo compartimento intracellulare, in cui costituiscono i precursori per la successiva reazione guidata dall'enzima esokinasi. Il terzo compartimento è quello dei prodotti metabolici, in cui glucosio e FDG sono stati fosforilati. In questo modello, quindi, i due compartimenti intracellulari sono definiti da due stati chimici diversi di una stessa sostanza e si trovano nella stessa locazione fisica, la cellula del tessuto cerebrale.

Per il modello del FDG e del glucosio, si usa parlare di modello a tre compartimenti oppure di modello a due compartimenti tissutali. La cinetica di trasferimento è del primo ordine, con dipendenza lineare dalla concentrazione nel compartimento sorgente. Le *rate constants*  $k_{ij}$  che descrivono il trasferimento delle sostanze tra questi compartimenti sono 4 e vengono convenzionalmente indicate con  $K_1, k_2, k_3, k_4$ :

- $K_1$ : descrive l'*uptake* del tracciante (o del glucosio) all'interno della cellula e lo si misura generalmente in ml/min/g.  $K_1$  è data dal prodotto tra *perfusione* ed *estrazione*:  $K_1 = F \cdot E$ . La perfusione  $F$  (ml/min/g) indica quanto sangue fluisce nell'unità di tempo entro una certa massa di tessuto; l'estrazione  $E$  è legata alla perfusione secondo la relazione  $E = 1 - e^{-PS/F}$  dove  $PS$  è il prodotto della *permeabilità* della barriera da attraversare (cm/min) per la superficie di tale barriera presente nella quantità di tessuto in esame (cm<sup>2</sup>/g). L'estrazione è tanto maggiore (prossima ad 1) quanto più facile è attraversare la barriera (alto prodotto  $PS$ ) e quanto maggiore è il tempo per cui la sostanza resta disponibile alla "cattura" (cioè bassa perfusione).
- $k_2$ : descrive il passaggio inverso della BBB e si misura generalmente in min<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup>È più corretto indicare il primo compartimento come il solo plasma, poiché il glucosio ed il FDG legato ai globuli rossi non è disponibile per gli scambi cellulari. La frazione disponibile ad entrare nella via glicolitica è quindi data da  $1 - h$ , dove  $h$  è l'ematocrito.

- $k_3$ : descrive il rate di fosforilazione ( $\text{min}^{-1}$ ).
- $k_4$ : descrive il rate di defosforilazione ( $\text{min}^{-1}$ ). Come già discusso, questa reazione viene spesso considerata trascurabile nel tessuto cerebrale, per il fatto che il FDG-6-fosfato non rappresenta un buon substrato per gli enzimi presenti, mentre è bassa la concentrazione degli enzimi per i quali, invece, sarebbe un ottimo substrato. Ciò fa in modo che il FDG resti praticamente intrappolato nel tessuto almeno per la durata dell'esame PET, generalmente svolto entro 60 min dall'iniezione del tracciante. Nel seguito presenteremo le equazioni del modello cinetico nel caso più generale ( $k_4 \neq 0$ ), riportando, però in forma estesa anche le espressioni cui si riducono nel caso  $k_4 = 0$ , essendo questa approssimazione generalmente adottata nella pratica<sup>2</sup>.

L'applicabilità del modello descritto per la quantificazione dell'utilizzo locale di glucosio dipende comunque dalla validità di altre ipotesi o condizioni [11, 16], legate essenzialmente alla omogeneità dei compartimenti, all'utilizzo di quantità tracciante di FDG ed al raggiungimento di uno stato stazionario del metabolismo. Osserviamo inoltre che, dal punto di vista metodologico, deve essere vero che la concentrazione plasmatica di FDG e di glucosio a livello dei capillari, che non può essere misurata ma che effettivamente è quella con cui il tracciante raggiunge le cellule cerebrali, sia uguale a (o in costante relazione con) la concentrazione plasmatica arteriosa, generalmente oggetto della misura sperimentale. In effetti, la differenza di concentrazione sembra essere inferiore al 5% [11]. Inoltre, ogni potenziale errore associato a questa approssimazione per il FDG, viene parzialmente compensato, nelle procedure quantitative che descriveremo in seguito, da una analoga approssimazione per la concentrazione plasmatica del glucosio.

### 1.3.2 Analisi matematica del modello

Le equazioni di bilancio di massa per il FDG nel caso generale  $k_4^* \neq 0$  assumono la forma seguente:

$$\frac{dC_E^*(t)}{dt} = K_1^* C_p^*(t) - (k_2^* + k_3^*) C_E^*(t) + k_4^* C_M^*(t) \quad (1.3)$$

$$\frac{dC_M^*(t)}{dt} = k_3^* C_E^*(t) - k_4^* C_M^*(t). \quad (1.4)$$

La concentrazione totale in una regione di tessuto  $i$  è data, in generale, da

$$C_i^*(t) = C_E^*(t) + C_M^*(t) + V_p C_p^*(t) \quad (1.5)$$

<sup>2</sup>Il dibattito sulla necessità di introdurre una  $k_4 \neq 0$  è stato forte nel corso degli anni ed è tuttora vivo. Il suo utilizzo sembra produrre migliori risultati nei fit non lineari dei metodi quantitativi multiparametrici (discussi in Sez. 1.4) [13]. Altri autori ritengono, invece, che i valori di  $k_4$  significativamente diversi da zero così ottenuti possano essere sostanzialmente un artefatto dovuto all'assenza di omogeneità dei compartimenti nelle regioni in esame, eterogenee rispetto a flusso sanguigno, trasporto del tracciante, metabolismo e struttura [14, 15].



dove  $V_p$  è la frazione vascolare del tessuto. Nel cervello, la quantità di tracciante attribuibile al compartimento vascolare è trascurabile, poiché lo spazio vascolare nel tessuto è piccolo rispetto allo spazio extravascolare [12].

La soluzione delle equazioni (1.3) ed (1.4) è data da

$$C_E^*(t) = \frac{K_1^*}{\alpha_2 - \alpha_1} [(k_4^* - \alpha_1) e^{-\alpha_1 t} + (\alpha_2 - k_4^*) e^{-\alpha_2 t}] \otimes C_p^*(t) \quad (1.6)$$

$$C_M^*(t) = \frac{K_1^* k_3^*}{\alpha_2 - \alpha_1} [e^{-\alpha_1 t} - e^{-\alpha_2 t}] \otimes C_p^*(t) \quad (1.7)$$

dove

$$\alpha_1 = [k_2^* + k_3^* + k_4^* - \sqrt{(k_2^* + k_3^* + k_4^*)^2 - 4k_2^* k_4^*}] / 2 \quad (1.8)$$

$$\alpha_2 = [k_2^* + k_3^* + k_4^* + \sqrt{(k_2^* + k_3^* + k_4^*)^2 - 4k_2^* k_4^*}] / 2 \quad (1.9)$$

e  $\otimes$  denota l'operatore di convoluzione.

Sostituendo le eq. (1.6) ed (1.7) nella (1.5), essa diviene

$$C_i^*(t) = \frac{K_1^*}{\alpha_2 - \alpha_1} [(k_3^* + k_4^* - \alpha_1) e^{-\alpha_1 t} + (\alpha_2 - k_3^* - k_4^*) e^{-\alpha_2 t}] \otimes C_p^*(t) \quad (1.10)$$

che rappresenta la curva di uptake del tracciante nel tessuto.

Nel caso in cui si assuma  $k_4^* = 0$ , allora  $\alpha_1 = 0$  ed  $\alpha_2 = k_2^* + k_3^*$ . Le equazioni precedenti si riducono a

$$C_E^*(t) = K_1^* e^{-(k_2^* + k_3^*)t} \otimes C_p^*(t) \quad (1.11)$$

$$C_M^*(t) = \frac{K_1^* k_3^*}{k_2^* + k_3^*} [1 - e^{-(k_2^* + k_3^*)t}] \otimes C_p^*(t) \quad (1.12)$$

$$C_i^*(t) = \frac{K_1^*}{k_2^* + k_3^*} \left[ k_3^* \int_0^t C_p^*(t') dt' + k_2^* e^{-(k_2^* + k_3^*)t} \int_0^t C_p^*(t') e^{(k_2^* + k_3^*)t'} dt' \right] \quad (1.13)$$

dove, nell'ultima equazione, il prodotto di convoluzione è stato scritto per esteso. L'andamento tipico dell'uptake nel tessuto  $C_i^*(t)$  e della funzione di input  $C_p^*(t)$  è illustrato in Fig. 1.3.

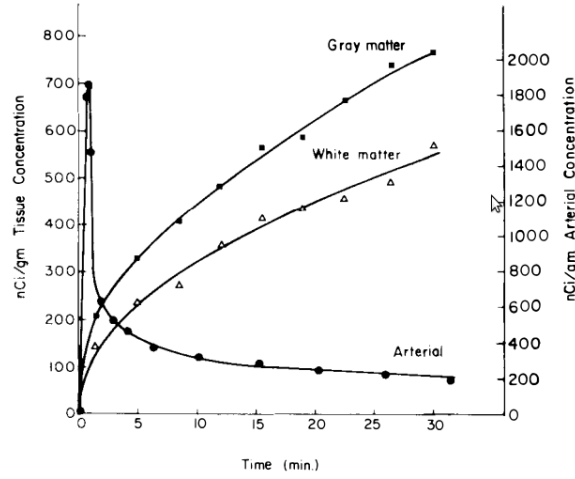


Figura 1.3: Tipici andamenti della concentrazione plasmatica arteriosa e della concentrazione tissutale nella materia bianca e nella materia grigia dopo l'iniezione di un bolo di FDG (da [1]).

### 1.3.3 Il CMRGlu e la Lumped Constant

In uno stato stazionario in cui le concentrazioni di glucosio,  $C_E$  e  $C_M$  restino costanti nel tempo, il CMRGlu è uguale al rate netto di fosforilazione del glucosio, cioè

$$CMRGlu = k_3 C_E - k_4 C_M = \phi k_3 C_E \quad (1.14)$$

dove  $\phi \equiv 1 - k_4 C_M / (k_3 C_E)$  è la frazione di glucosio che è metabolizzata e prosegue per la via glicolitica dopo la fosforilazione.

Inoltre, in uno stato stazionario, non può esserci accumulo o perdita di glucosio, quindi

$$K_1 C_P + k_4 C_M = (k_2 + k_3) C_E. \quad (1.15)$$

Da queste due equazioni deriva che

$$C_E = \frac{K_1}{k_2 + \phi k_3} C_P \quad (1.16)$$

e quindi

$$CMRGlu = \frac{K_1 k_3 \phi}{k_2 + \phi k_3} C_P. \quad (1.17)$$

Se si considera, adesso, anche il FDG e si moltiplicano numeratore e denominatore per  $K_1^* k_3^* / (k_2^* + k_3^*)$ , la precedente equazione diventa

$$CMRGlu = \left( \frac{K_1^* k_3^*}{k_2^* + k_3^*} \right) \left( \frac{\phi}{\lambda f} \right) C_P \quad (1.18)$$

dove  $f = k_3^*/k_3$  e  $\lambda = [K_1^*/(k_2^* + k_3^*)][K_1/(k_2 + \phi k_3)]$ .

Il fattore  $\lambda f/\phi$  è noto come *Lumped Constant* (LC) e la (1.18) può quindi essere riscritta come

$$CMRGlu = \frac{C_p}{LC} \left( \frac{K_1^* k_3^*}{k_2^* + k_3^*} \right) = \frac{C_p}{LC} K_i^* \quad (1.19)$$

dove  $K_i^*$  è la cosiddetta *Influx constant* del FDG. Non ci addentriamo in questa sede sulla definizione biochimica della LC [11, 12, 16], ma osserviamo solamente che, come si deduce dalla sua definizione e dalla (1.19), essa consente di tenere presenti le differenze di trasporto e fosforilazione di glucosio e FDG, in modo da consentire di passare dalla misura del rate metabolico del FDG, possibile grazie alla PET, al rate metabolico del glucosio vero e proprio.

Una assunzione comunemente impiegata nella PET cerebrale con FDG è che il valore della LC sia uniforme nell'intero cervello, tra diversi soggetti, tra gruppi diversi di pazienti e indipendentemente da condizioni che possono limitare l'apporto di glucosio (ipoglicemia ed ischemia)<sup>3</sup> [16, 17]. Molti gruppi di ricerca hanno misurato il valore della LC [18–20]. Il Turku PET Center [17], centro di riferimento mondiale per la metodica PET, raccomanda i valori misurati da Wu [21]: LC=0.65 nell'assunzione di uptake irreversibile ( $k_4 = 0$ ) e LC=0.81 se viene considerata la defosforilazione ( $k_4 \neq 0$ ). Il valore che noi impiegheremo nel seguito è 0.52, pari a quello adottato in [2], lavoro con il quale confronteremo le nostre stime del CMRGlu.

L'assunzione di un valore unico per la LC è, comunque, una approssimazione che, per quanto giustificata, condiziona l'esattezza in termini assoluti della stima del CMRGlu. A suo ulteriore sostegno osserviamo anche che, in molti, casi la quantificazione del rate metabolico del FDG (tramite la  $K_i^*$ ) è di per sé significativa e la LC perde parzialmente di significato riducendosi a un solo fattore di scala. Pertanto, l'unica accortezza è quella di dichiarare il valore impiegato per la LC, in modo da rendere possibile il confronto dei risultati numerici con altri gruppi di lavoro.

## 1.4 Metodi di quantificazione del CMRGlu

Nel precedente paragrafo sono state illustrate le equazioni differenziali che descrivono la cinetica del FDG nel tessuto cerebrale ed è stato definito il CMRGlu.

Se si considera la (1.19), assumendo noto il valore della LC e misurando il valore della glicemia  $C_p$  durante l'esame<sup>4</sup>, il valore del CMRGlu può essere determinato stimando i valori

<sup>3</sup>La giustificazione di questa assunzione risiede nel fatto che, sebbene le singole costanti cinetiche possano cambiare da regione a regione e da stato a stato, le variazioni sono generalmente simili per glucosio e FDG, producendo una perturbazione piccola sia in  $\lambda$  che in  $f$ .

<sup>4</sup>Il valore della glicemia viene generalmente misurato all'inizio e alla fine della scansione PET ed il valore medio viene poi utilizzato nella (1.19). Gli effetti sull'accuratezza della stima del CMRGlu prodotti da un incremento del livello glicemico durante l'esame sono stati valutati in [22] e sono comunque inferiori al 15% relativamente ad un incremento del 40% della glicemia. Osserviamo inoltre che la misura della glicemia viene svolta con l'utilizzo dei normali stick glicemici. Essi forniscono la glicemia in mg/dl, ove il volume è inteso come volume di sangue e non di plasma, come sarebbe, invece, richiesto dalla (1.19). La mancata correzione

delle singole costanti cinetiche  $K_1, k_2$  e  $k_3$ .

Se si suppone di misurare l'andamento nel tempo della *input function*,  $C_p^*(t)$ , e dell'uptake nel tessuto,  $C_i^*(t)$ , allora i valori delle singole costanti cinetiche possono essere stimate tramite fit nonlineare delle soluzioni del sistema di equazioni differenziali: l'equazione (1.13) nel caso in cui si assuma  $k_4 = 0$  o la (1.10) nel caso in cui sia  $k_4 \neq 0$ . Questo tipo di approccio è denominato *Metodo Multiparametrico* (o analisi cinetica completa) e richiede la misura della funzione di input a partire dall'istante dell'iniezione del FDG ( $t = 0$ ) e l'acquisizione di numerose immagini PET cerebrali in modalità dinamica a partire dallo stesso istante. Come noto, i fit non lineari presentano gli svantaggi di richiedere l'impiego di metodi iterativi, di mostrare problemi di convergenza a minimi locali e di risentire fortemente della presenza del rumore sui dati sperimentali [23–26].

Sebbene l'approccio multiparametrico sia l'unico in grado di fornire informazioni sulle singole costanti cinetiche e quindi sui processi fisiologici che determinano il valore di ciascuna di esse, fortunatamente, per le applicazioni cliniche dei modelli cinetici, spesso non è necessario scendere ad un tale livello di dettaglio, bensì risulta sufficiente ottenere una stima globale i qualche combinazione significativa delle costanti. Nel caso del FDG è chiaro che la conoscenza di  $K_i^*$  è sufficiente per la valutazione del CMRGlu.

Per stimare  $K_i^*$  è possibile evitare procedure di fit non lineare e, allo stesso tempo, ridurre i tempi di scansione PET utilizzando il metodo proposto da Sokoloff e noto anche come *Metodo Autoradiografico* [11]. In questo metodo si utilizzano a priori delle stime medie delle singole costanti cinetiche ottenute su una popolazione di controllo e si valuta, poi, la effettiva  $K_i^*$  del soggetto correggendo i valori medi tramite la misura della  $C_p^*(t)$  e l'acquisizione di una singola immagine PET.

Un altro metodo, in cui è comunque richiesta una acquisizione dinamica cerebrale, è il metodo grafico del *Patlak Plot* [27]. In questo metodo, il valore di  $K_i^*$  viene ottenuto come intercetta di un fit lineare di punti ottenuti da opportune manipolazioni dei dati sperimentali.

Nelle sezioni 1.4.1 ed 1.4.2 discutiamo le equazioni alla base di questi due metodi, i loro vantaggi e le loro limitazioni.

#### 1.4.1 Il metodo autoradiografico di Sokoloff

Una derivazione elegante dell'equazione operativa di Sokoloff è riportata nello stesso lavoro dell'autore [11], ma riportiamo qui la più semplice derivazione di Phelps [12].

Moltiplicando numeratore e denominatore della (1.19) per  $C_M^*(T)$ , dove  $T$  è un determinato istante temporale si ottiene

$$CMRGlu = \frac{C_p}{LC} \left( \frac{K_1^* k_3^*}{k_2^* + k_3^*} \right) \frac{C_M^*(T)}{C_M^*(T)} = \frac{C_p}{LC} \left( \frac{K_1^* k_3^*}{k_2^* + k_3^*} \right) \frac{C_i^*(T) - C_E^*(T)}{C_M^*(T)}. \quad (1.20)$$

per l'ematocrito compensa l'analoga mancanza di correzione su  $C_p^*$ , generalmente misurata nel sangue e non nel plasma.

Sostituendo le equazioni (1.6) e (1.7), si ottiene l'equazione operazionale del metodo autoradiografico:

$$CMRGlu = \frac{C_p}{LC} \frac{C_i^*(T) - \frac{K_1^*}{\alpha_2 - \alpha_1} [(k_4^* - \alpha_1)e^{-\alpha_1 t} + (\alpha_2 - k_4^*)e^{-\alpha_2 t}] \otimes C_p^*}{\frac{k_2^* + k_3^*}{\alpha_2 - \alpha_1} (e^{-\alpha_1 t} - e^{-\alpha_2 t}) \otimes C_p^*} \quad (1.21)$$

che, nel caso  $k_4^* = 0$ , diviene

$$CMRGlu = \frac{C_p}{LC} \frac{C_i^*(T) - K_1^* e^{-(k_2^* + k_3^*)T} \int_0^T C_p^*(t) e^{(k_2^* + k_3^*)t} dt}{\int_0^T C_p^*(t) dt - e^{-(k_2^* + k_3^*)T} \int_0^T C_p^*(t) e^{(k_2^* + k_3^*)t} dt} \quad (1.22)$$

Se si misura la funzione di input  $C_p^*(t)$ , si conduce una acquisizione PET al tempo  $T$  per valutare  $C_i^*(T)$  e si utilizzano dei valori medi ottenuti in una popolazione di controllo per le costanti cinetiche, allora è possibile determinare il valore del  $CMRGlu$  senza la necessità delle lunghe acquisizioni dinamiche richieste dagli approcci multiparametrici. Il metodo di Sokoloff è, cioè, un *Single Scan Method* [16] ed è noto anche come *metodo autoradiografico*, poichè la procedura di acquisizione ricorda quella degli studi autoradiografici su animali, in cui la misura della distribuzione del tracciante era condotta con l'autoradiografia al tempo  $T$  al quale la cavia veniva soppressa.

E' chiaro che l'utilizzo di valori standard per le rate constants nelle equazioni (1.21) ed (1.22) può apparire una eccessiva semplificazione. Il principio con cui gli autori giustificano questa assunzione è il fatto che in queste equazioni l'accuratezza con cui è necessario conoscere le costanti è molto minore di quella richiesta dalla (1.19), in cui la conoscenza deve essere precisa, come consentito dall'impiego di metodi multiparametrici. Infatti, la presenza dei valori direttamente misurati di  $C_i^*(T)$  e di  $C_p^*(t)$  compensa l'eventuale differenza tra il singolo e la popolazione di controllo. Inoltre, l'errore introdotto dall'approssimazione si riduce allontanandosi dall'istante dell'iniezione, poichè, mentre nelle fasi iniziali la distribuzione del tracciante è fortemente governata dai valori delle singole costanti, il successivo raggiungimento di uno stato stazionario rende meno forte la dipendenza. E' pertanto possibile ottimizzare la procedura quantitativa, scegliendo un tempo di misura  $T$  non troppo precoce. Il  $T$  ottimale risulta compreso tra 30 min e 2 h (od anche tempi maggiori nel caso in cui si consideri il contributo di  $k_4^* \neq 0$ ) [12, 18].

Nonostante le considerazioni teoriche degli autori l'ottimizzazione sperimentale della procedura, l'utilizzo di valori medi per le costanti cinetiche rimane comunque il limite principale di questo approccio. nel.

I valori medi sono generalmente ottenuti da soggetti sani [1], mentre non è possibile dare stime medie per gli stati patologici, in cui i valori delle costanti variano con continuità in funzione dello stadio di malattia.

Un'indagine della sensibilità del metodo autoradiografico ai possibili errori introdotti dall'impiego di un set comune di rate constants è stata condotta da Huang [28, 29]: mentre nei

soggetti sani, l'impiego di un set medio di costanti produce un errore sulla stima del CMRGlu dell'ordine del 10% (se la misura è condotta almenodopo 40 min dall'iniezione),

Inoltre, il valore delle costanti cinetiche è generalmente diverso da regione a regione all'interno del cervello.

Se le variazioni possono ritenersi contenute tra le diverse strutture della materia grigia, crescono maggiormente tra materia grigia e materia bianca, producendo un valore del CMRGlu nella materia bianca che è circa la metà del valore della materia grigia. Questa differenza andrebbe tenuta presente nella produzione di immagini parametriche di CMRGlu, utilizzando il set di costanti più opportuno a seconda della composizione tissutale di ogni voxel dell'immagine  $C_i(T)$ .

### 1.4.2 Il metodo grafico di Patlak

Il metodo grafico del *Patlak plot* è stato proposto dal suo autore nel 1983 per la stima della  $K_i^*$  in processi di trasferimento unidirezionali attraverso la barriera ematoencefalica. Nel lavoro originale [27] il metodo è presentato per traccianti descritti da un modello cinetico più generale di quello del FDG, illustrato in Fig. 1.4 e tale da soddisfare le ipotesi seguenti:

1. il compartimento plasmatico è l'unica fonte di tracciante al sistema, con concentrazione  $C_p(t)$ ;
2. c'è rapido scambio di tracciante tra il plasma e la regione tissutale, la quale è costituita da  $n$  compartimenti. Il tracciante può fluire direttamente od indirettamente dal plasma ad ognuno degli  $n$  compartimenti tissutali, muoversi liberamente tra di essi e anche rifluire indietro nel plasma. Ovvero, il trasferimento tra plasma e compartimenti tissutali e tra gli stessi compartimenti è reversibile. Questa regione tissutale è detta "di scambio" o "reversibile";
3. il tracciante può entrare in una seconda regione tissutale, o direttamente dal plasma, o attraverso la regione di scambio. Tuttavia, una volta entrato in questa regione, il tracciante non può più uscire: questa regione si dice "irreversibile" o "*bound region*". Essa può essere costituita di una o più parti che sono raggruppate matematicamente in un singolo compartimento;
4. il tracciante nella regione di scambio può uscirne solo tornando nel plasma o passando nella regione irreversibile;
5. i trasferimenti del tracciante seguono una cinetica del primo ordine, in cui la costante di trasferimento dal compartimento  $j$  al compartimento  $i$  è indicata con  $k_{ij}$ ;
6. il tracciante non è inizialmente presente né nella regione di scambio né nella irreversibile.

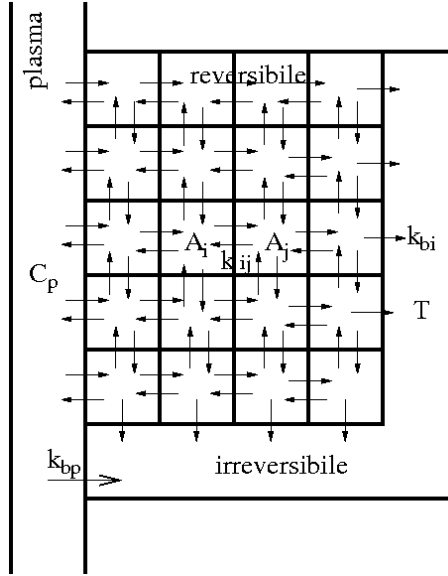


Figura 1.4: Generico modello compartimentale considerato nel lavoro di Patlak.

E' chiaro che il FDG soddisfa queste ipotesi ed, in particolare, in questo caso, la regione di scambio è costituita da un singolo compartimento ( $n=1$ ).

Per risolvere il modello nel modo più generico, Patlak definisce la seguente serie di vettori e matrici:

- $\mathbf{A} = (A_1, \dots, A_n)^T$ : vettore ( $n \times 1$ ) delle concentrazioni di tracciante in ogni compartimento della regione reversibile;
- $\mathbf{K} = \{k_{ij}, \quad i, j = 1, \dots, n\}$ : matrice ( $n \times n$ ) delle rate constants  $k_{ij}$ . Le  $k_{ii}$ , per definizione, hanno valore negativo e descrivono le perdite complessive del compartimento  $i$  (verso altri compartimenti, verso il plasma e verso il compartimento irreversibile);
- $\mathbf{Q} = (k_{1p}, \dots, k_{np})^T$ : vettore ( $n \times 1$ ) delle rate constants  $k_{ip}$  (dal plasma al compartimento  $i$ );
- $\mathbf{G}$ : matrice diagonale ( $n \times n$ ) delle rate constants  $k_{bi}$  (dal compartimento  $i$  del reversibile alla *bound region*). Gli elementi  $G_{ij}$  sono nulli per  $j \neq i$ , mentre  $G_{ii} = k_{bi}$ . Per analogia, sarà  $k_{bp}$  la costante per il trasferimento diretto dal plasma al compartimento irreversibile.

L'accumulo nel compartimento reversibile sarà dato da:

$$\frac{d\mathbf{A}}{dt} = \mathbf{K}\mathbf{A} + \mathbf{Q}C_p(t) \quad (1.23)$$

che per componenti è:

$$\frac{dA_i}{dt} = \sum_{j=1}^n k_{ij}A_j + Q_iC_p(t) = \sum_{j \neq i}^n k_{ij}A_j + k_{ii}A_i + k_{ip}C_p(t) . \quad (1.24)$$

Definiamo il vettore  $(1 \times n)$   $\mathbf{U}'_{\mathbf{n}} = (1, \dots, 1)$ . Per il compartimento irreversibile, la quantità intrappolata  $T$  è:

$$\frac{dT}{dt} = \mathbf{U}'_{\mathbf{n}} \mathbf{G} \mathbf{A} + k_{bp} C_p(t) \quad (1.25)$$

cioè, in componenti,

$$\begin{aligned} \frac{dT}{dt} &= \sum_{i=1}^n (\mathbf{U}'_{\mathbf{n}})_i (\mathbf{G} \mathbf{A})_i + k_{bp} C_p(t) = \sum_{i=1}^n 1 \cdot \left( \sum_{j=1}^n G_{ij} A_j \right) + k_{bp} C_p(t) = \\ &= \sum_{i=1}^n k_{bi} A_i + k_{bp} C_p(t) . \end{aligned} \quad (1.26)$$

Ciò che realmente si misura è la quantità  $A_m$  in una ROI costituita da entrambi i compartimenti, reversibile ed irreversibile, e da un certo volume  $V_p$  di plasma:

$$A_m = \mathbf{U}'_{\mathbf{n}} \mathbf{A} + T + V_p C_p = \sum_{i=1}^n A_i + T + V_p C_p . \quad (1.27)$$

Risolviamo le (1.23) e (1.25) per sostituire in questa ultima equazione  $A$  e  $T$ .

La soluzione della (1.23) è:

$$\mathbf{A}(t) = e^{\mathbf{K}t} \int_0^t C_p(\tau) e^{-\mathbf{K}\tau} d\tau \cdot \mathbf{Q} . \quad (1.28)$$

Inserendo questa espressione nella (1.25) e risolvendo per  $T$  si ha:

$$T(t) = \left( -\mathbf{U}'_{\mathbf{n}} \mathbf{G} \mathbf{K}^{-1} \mathbf{Q} + k_{bp} \right) \int_0^t C_p(\tau) d\tau + \mathbf{U}'_{\mathbf{n}} \mathbf{G} \mathbf{K}^{-1} \mathbf{A}(t) \quad (1.29)$$

e quindi

$$\begin{aligned} A_m(t) &= \left( -\mathbf{U}'_{\mathbf{n}} \mathbf{G} \mathbf{K}^{-1} \mathbf{Q} + k_{bp} \right) \int_0^t C_p(\tau) d\tau + \mathbf{U}'_{\mathbf{n}} (\mathbf{G} \mathbf{K}^{-1} + \mathbf{I}) \mathbf{A}(t) + V_p C_p(t) = \\ &= K_i \int_0^t C_p(\tau) d\tau + \mathbf{U}'_{\mathbf{n}} (\mathbf{G} \mathbf{K}^{-1} + \mathbf{I}) \mathbf{A}(t) + V_p C_p(t) \end{aligned} \quad (1.30)$$

dove la *influx constant*  $K_i$  è definita, in notazione matriciale, come

$$K_i = -\mathbf{U}'_{\mathbf{n}} \mathbf{G} \mathbf{K}^{-1} \mathbf{Q} + k_{bp} . \quad (1.31)$$

Se fosse  $\mathbf{A}(t) \propto C_p(t)$ , dividendo entrambi i membri della (1.30) per  $C_p(t)$  si otterrebbe una relazione lineare in cui la pendenza è data da  $K_i$ . Sarebbe quindi possibile stimare  $K_i$  misurando nel tempo  $C_p(t)$  ed  $A_m(t)$ . In quali condizioni si verifica effettivamente la proporzionalità tra  $\mathbf{A}(t)$  e  $C_p(t)$ ?



Riscriviamo la  $\mathbf{K}$  in forma diagonale:  $\mathbf{D} = \mathbf{P}\mathbf{K}\mathbf{P}^{-1}$ , dove  $\mathbf{P}$  è la matrice che diagonalizza  $\mathbf{K}$  e  $\mathbf{D}$  è una matrice diagonale che ha per elementi  $d_i$  gli autovalori di  $\mathbf{K}$ . Poichè  $\mathbf{K} = \mathbf{P}^{-1}\mathbf{D}\mathbf{P}$ , vale  $e^{\mathbf{K}t} = \mathbf{P}^{-1}e^{\mathbf{D}t}\mathbf{P}$ . Quindi la (1.28) diventa:

$$\mathbf{A}(t) = \mathbf{P}^{-1}e^{\mathbf{D}t}\mathbf{P} \int_0^t C_p(\tau) \mathbf{P}^{-1} e^{-\mathbf{D}\tau} \mathbf{P} d\tau \mathbf{Q} = \mathbf{P}^{-1}e^{\mathbf{D}t} \int_0^t C_p(\tau) e^{-\mathbf{D}\tau} d\tau \mathbf{P}\mathbf{Q}. \quad (1.32)$$

Supponiamo adesso che la funzione  $C_p(t)$  sia descrivibile con una serie di esponenziali<sup>5</sup>, cioè

$$C_p(t) = \sum_{i=1}^m b_i e^{-\beta_i t} \quad \beta_i \in \mathbb{R}^+ \quad \beta_1 \geq \beta_2 \geq \dots \geq \beta_m, \quad (1.33)$$

allora l'equazione precedente diventa:

$$\begin{aligned} \mathbf{A}(t) &= \mathbf{P}^{-1}e^{\mathbf{D}t} \sum_{i=1}^m b_i \int_0^t e^{-\beta_i \tau} e^{-\mathbf{D}\tau} d\tau \mathbf{P}\mathbf{Q} = \\ &= \mathbf{P}^{-1}e^{\mathbf{D}t} \sum_{i=1}^m b_i \int_0^t e^{-(\beta_i \mathbf{I} + \mathbf{D})\tau} d\tau \mathbf{P}\mathbf{Q} = \\ &= \mathbf{P}^{-1}e^{\mathbf{D}t} \sum_{i=1}^m b_i (1 - e^{-(\beta_i \mathbf{I} + \mathbf{D})t}) (\beta_i \mathbf{I} + \mathbf{D})^{-1} \mathbf{P}\mathbf{Q} = \\ &= \mathbf{P}^{-1} \sum_{i=1}^m b_i (e^{\mathbf{D}t} - e^{-\beta_i \mathbf{I}t}) (\beta_i \mathbf{I} + \mathbf{D})^{-1} \mathbf{P}\mathbf{Q}. \end{aligned} \quad (1.34)$$

Supponiamo che  $\exists q \leq m$  t. c.

$$\beta_q \ll \min_{d_i \in \sigma(\mathbf{K})} |\text{Real}(d_i)| \quad (1.35)$$

dove  $\sigma(\mathbf{K})$  è lo spettro di  $\mathbf{K}$ . Poichè i  $\beta_i$  sono ordinati in modo decrescente, per ogni  $i = q, \dots, m$  vale la stessa relazione. Se la condizione (1.35) è soddisfatta, allora  $\exists t^*$  tale che per  $t > t^*$

$$e^{-\beta_q t} \gg |e^{\mathbf{D}t}| \quad (1.36)$$

$$(\beta_q \mathbf{I} + \mathbf{D}) \approx \mathbf{D} \quad (1.37)$$

$$\sum_{i=1}^{q-1} b_i e^{-\beta_i t} \ll \sum_{i=q}^m b_i e^{-\beta_i t}. \quad (1.38)$$

Di conseguenza,  $\mathbf{A}(t > t^*)$  diventa:

$$\begin{aligned} \mathbf{A}(t > t^*) &= -\mathbf{P}^{-1} \sum_{i=q}^m b_i e^{-\beta_i \mathbf{I}t} \mathbf{D}^{-1} \mathbf{P}\mathbf{Q} = \\ &= -\mathbf{P}^{-1} C_p(t > t^*) \mathbf{D}^{-1} \mathbf{P}\mathbf{Q} = -\mathbf{K}^{-1} \mathbf{Q} C_p(t > t^*) \end{aligned} \quad (1.39)$$

<sup>5</sup>Questa approssimazione è buona per iniezioni di tracciante “in bolo”. Si veda il paragrafo 1.5.2.

e quindi per  $t > t^*$ , c'è proporzionalità tra  $A(t)$  e  $C_p(t)$  e la (1.30) diventa

$$A_m(t > t^*) = K_i \int_0^t C_p(\tau) d\tau + \mathbf{U}'_n (\mathbf{G} + \mathbf{K}) \mathbf{K}^{-1} (-\mathbf{K}^{-1} \mathbf{Q}) C_p(t) + V_p C_p(t). \quad (1.40)$$

Ponendo  $V_0 = -\mathbf{U}'_n (\mathbf{G} + \mathbf{K}) \mathbf{K}^{-1} \mathbf{K}^{-1} \mathbf{Q}$  e dividendo entrambi i membri per per  $C_p(t)$  si ottiene

$$\frac{A_m(t > t^*)}{C_p(t)} = K_i \frac{\int_0^t C_p(\tau) d\tau}{C_p(t)} + (V_0 + V_p) \quad (1.41)$$

per cui, plottando  $A_m(t)/C_p(t)$  vs.  $\int_0^t C_p(\tau) d\tau / C_p(t)$  si riscontra, da un certo punto in poi (corrispondente a  $t > t^*$  e se l'ipotesi di legame irreversibile è realmente soddisfatta dal tracciante), un andamento lineare dei punti il cui fit consente di stimare  $K_i$  (pendenza) e  $V_0 + V_p$  (intercetta).

Se  $K_i$  è sufficiente per valutare il metabolismo, anche  $V_0$  può fornire delle importanti informazioni. Per interpretarne il significato, ricordiamo intanto che viene definito *steady-state space* o *volume di distribuzione* di un compartimento di scambio il rapporto tra la concentrazione di materiale in essa contenuta e la concentrazione plasmatica al raggiungimento dello stato stazionario. Inoltre, si definisce semplicemente *spazio* del compartimento il suo *steady-state space* quando tutte le  $k_{bi}$  sono nulle. In relazione a queste definizioni, ricordando la definizione della matrice  $\mathbf{G}$  e che nello stato stazionario  $A = -\mathbf{K}^{-1} \mathbf{Q} C_p(t)$ , allora lo *steady-state space* del compartimento di scambio è dato da  $SS_A = -\mathbf{K}^{-1} \mathbf{Q}$  e il suo *spazio* è dato da  $S_A = -(\mathbf{K} + \mathbf{G})^{-1} \mathbf{Q}$ . Si dimostra che  $V_0$  costituisce un limite inferiore al valore di  $SS_A$  o, più precisamente,  $0 \leq V_0 \leq SS_A \leq S_A$ .

Vediamo come questi risultati si traducono nel caso del FDG. Ricordando il modello descritto in Fig. 1.2, è evidente che è presente un solo compartimento reversibile e che  $k_{bp} = 0$ . La matrice  $\mathbf{K}$  si riduce al solo elemento  $k_{11} = -(k_2^* + k_3^*)$  ed il vettore  $\mathbf{Q}$  si riduce al solo  $k_{1p} = K_1^*$ . Infine,  $\mathbf{G}$  è data dal solo elemento  $k_{b1} = k_3^*$ . Pertanto  $K_i = -\mathbf{U}'_n \mathbf{G} \mathbf{K}^{-1} \mathbf{Q} = K_1^* k_3^* / (k_2^* + k_3^*)$ , come già visto, e  $V_0 = K_1^* k_2^* / (k_2^* + k_3^*)^2$ . Riprendendo la notazione  $C_i^*(t)$  per la concentrazione misurata nella regione  $i$ , l'equazione operativa di Patlak diviene:

$$\frac{C_i^*(t)}{C_p^*(t)} = \frac{K_1^* k_3^*}{k_2^* + k_3^*} \frac{\int_0^t C_p^*(\tau) d\tau}{C_p^*(t)} + \left[ \frac{K_1^* k_2^*}{(k_2^* + k_3^*)^2} + V_p \right]. \quad (1.42)$$

La condizione (1.35) sotto cui questa equazione è valida è espressa da  $\beta_q \ll (k_2^* + k_3^*)$ . Quanto maggiore sarà la differenza tra queste quantità e tanto più precoce sarà il tempo  $t^*$  a partire dal quale il plot diviene lineare.

Infine, lo *steady-state space* del compartimento di scambio (secondo compartimento), che indicheremo con  $V_2$  è dato da

$$V_2 = SS_A = \frac{K_1^*}{k_2^* + k_3^*} \quad (1.43)$$

mentre  $S_A$ , che indicheremo con  $V_2^0$  e che si ottiene ponendo  $k_3^* = 0$ , diviene  $V_2^0 = S_A = K_1^*/k_2^*$ .

Per completezza, ricordiamo infine che, in un successivo lavoro del 1985 [30], i risultati appena descritti e validi per legame irreversibile del tracciante, vengono generalizzati e vengono fornite le equazioni anche nel caso di intrappolamento incompleto (fuga verso il sangue con costante  $k_b \neq 0$ ). Ancora è possibile stimare le costanti tramite il fit lineare della seguente espressione:

$$\frac{A_m(t)}{C_p(t)} = K_i \frac{\int_0^t e^{-k_b(t-\tau)} C_p(\tau) d\tau}{C_p(t)} + (V_0 + V_p). \quad (1.44)$$

Tuttavia, quando il Patlak Plot viene impiegato per l'analisi del FDG, viene sempre assunto  $k_4^* = 0$  e la formula utilizzata è quindi la (1.42)<sup>6</sup>.

Il metodo grafico di Patlak è estremamente semplice dal punto di vista di calcolo e si dimostra essere molto più robusto del metodo multiparametrico, soprattutto in presenza di dati rumorosi. Dal punto di vista operativo, è necessario, come nel metodo di Sokoloff, misurare la funzione di input a partire dall'istante dell'iniezione, mentre, per quanto riguarda i dati cerebrali, è necessario acquisire più di un frame temporale per poter costruire il plot su cui condurre il fit lineare. Non si tratta quindi di un *Single Scan Method*, bensì di un metodo dinamico e, pertanto, un po' più laborioso del metodo autoradiografico. Rispetto ad esso, ha comunque il grosso vantaggio di non richiedere a priori nessun valore per le costanti cinetiche, e di poter fornire una mappa metabolica parametrica senza richiedere informazione a priori sulla natura della sostanza che compone ogni voxel.

Il principale problema posto dal metodo di Patlak è relativo alla determinazione del tempo  $t^*$  a partire dal quale il plot diviene effettivamente lineare. Sia una mancanza di equilibrio tra il pool dei precursori ed il compartimento plasmatico, che la perdita di prodotti metabolici possono produrre non linearità nel grafico, per cui la linearità si avrà tra il tempo  $t^*$  dal quale si può ritenere di aver ottenuto un sufficiente equilibrio col plasma e un tempo limite superiore oltre il quale diventa rilevante la perdita dei prodotti (cioè non sono più trascurabili gli effetti di una eventuale  $k_4 \neq 0$ ). Gli studi mirati a definire questo intervallo di tempo sono molti ed i risultati spesso discordanti: in [31] e [32] la linearità è riscontrata a partire, rispettivamente, da 10 e 20 min dopo l'iniezione e persiste fino a 40 min, quando la scansione è stata interrotta; in uno studio più recente ed esteso [18] l'inizio della parte lineare della curva sembra invece posticipato a 45 min.

<sup>6</sup>Osserviamo che, sebbene la fuga di tracciante dal compartimento irreversibile considerata nel secondo lavoro di Patlak sia verso il pool ematico e non verso il compartimento irreversibile (per cui  $k_b$  è concettualmente diversa da  $k_4$ ), spesso la (1.44) viene citata per il caso  $k_4 \neq 0$ .

## 1.5 Determinazione della Input Function

Come abbiamo visto nei precedenti paragrafi, qualunque sia il metodo adottato per quantificare il CMRGlu, è necessario misurare la funzione di input  $C_p^*(t)$  a partire dall'istante dell'iniezione. Poichè l'iniezione di tracciante è generalmente svolta come bolo, questa funzione mostra uno stretto picco iniziale (di FWHM dell'ordine della decina di sec) per decrescere poi lentamente. Il metodo *gold standard* per la misura di  $C_p^*(t)$  consiste nel prelievo arterioso; la ricerca di metodi meno invasivi ha prodotto approcci completamente diversi, dei quali, anche, discutiamo brevemente le caratteristiche.

### 1.5.1 Campionamento arterioso

Il campionamento arterioso può essere svolto in maniera manuale od automatica. Nel primo caso, i prelievi possono essere svolti ad un intervallo di campionamento minimo di 5-10 secondi, generalmente non sufficiente per una corretta determinazione della funzione nella sua fase iniziale. I campioni vengono poi misurati in un pozzetto cross-calibrato verso il tomografo PET. I *blood counters* automatici offrono potenzialità superiori, sia per il minimo intervento manuale richiesto, che per la possibilità di raggiungere intervalli di campionamento inferiori al secondo [33–35]. Nonostante questi dispositivi riducano l'esposizione del personale alle radiazioni ed alla contaminazione col sangue del paziente, il campionamento arterioso è comunque una procedura laboriosa e, per il paziente, fastidiosa nonché potenzialmente pericolosa, vista la necessità di aprire una via nell'arteria radiale [36]. Riguardo a questo ultimo aspetto, una soluzione spesso adottata è l'utilizzo di campioni di sangue venoso arterializzato [12, 28, 37], sebbene ciò produca un picco ritardato ed allargato rispetto alla funzione ottenuta con prelievo arterioso.

### 1.5.2 Funzioni di input Population Based

In questo tipo di approccio proposto da Takikawa e Phillips [38, 39] ed esteso e rivisto da numerosi autori [40–44], si utilizza una funzione di input standard, ottenuta come media su una popolazione e generalmente descritta dalla somma di due, tre o quattro esponenziali. Questa funzione viene rinormalizzata, per il soggetto in esame, utilizzando uno o più campionamenti arteriosi o venosi, o persino in modo completamente non invasivo, tramite una misura accurata della dose iniettata e della BSA (Body Surface Area) [45, 46].

La popolazione impiegata per la determinazione della funzione standard è generalmente acquisita all'interno dello stesso istituto in cui la funzione di input verrà impiegata. Ciò consente di ottenere una funzione che riflette le caratteristiche derivanti dallo specifico protocollo di iniezione dello stesso istituto.

### 1.5.3 Metodi matematici complessi

In questa categoria ricadono principalmente i metodi di *cluster analysis* [47], *multiple linear regression analysis* [48] ed *independent component analysis* [49–51] sui quali, però, non ci soffermiamo, essendo difficilmente implementabili in un contesto clinico. Spesso questi metodi vengono usati in concomitanza con i metodi di estrazione dell'input dalle immagini descritti nel prossimo paragrafo, dei quali correggono i risultati.

### 1.5.4 Funzioni di input Image Derived

In questo tipo di approccio, la funzione di input è ricavata tracciando ROI sulle immagini PET in regioni che contengano solo sangue. E' quindi necessario che entro il campo di vista della PET siano contenuti il cuore oppure dei grandi vasi.

Nel caso di imaging cerebrale, solo le arterie carotidi rientrano entro il campo di vista assiale della PET (dell'ordine di 20 cm) e sono sufficientemente grandi da essere visibili nelle immagini PET/CT. Esse costituiscono, pertanto, la scelta obbligata quando è necessario seguire contemporaneamente l'input arterioso e l'uptake cerebrale. Questo approccio risulta, così, quello più usato per la valutazione del CMRGlu con input image derived ed in [52] è possibile trovare un confronto tra vari modi in cui esso è stato implementato [51, 53–57]. In questi lavori, le differenze riguardano, essenzialmente, il metodo di segmentazione delle carotidi (automatica/manuale, basato su immagini MRI, CT, o sulla somma dei primi frame PET in cui l'attività è massima), il metodo di estrazione dei conteggi (con valutazione del valor medio o del valore massimo di attività nella ROI), il metodo di correzione per il *partial volume effect* (PVE) (con valutazione sperimentale di un recovery coefficient, od in modo analitico impiegando una Geometrical Transfer Matrix contenente la PSF del tomografo, e/o con ulteriori correzioni tramite l'impiego di campionamenti venosi/arteriosi) ed, infine, il metodo di correzione per lo *spill-over* dai tessuti circostanti.

Questi ultimi due aspetti, PVE e spill-over, meritano una più approfondita discussione [58]: entrambi gli effetti sono dovuti al blurring delle immagini PET dovuto alla limitata risoluzione spaziale del tomografo, che fa sì che i valori di concentrazione ottenuti nelle immagini differiscano da quelli che dovrebbero essere idealmente. Nel PVE, la convoluzione tra la distribuzione di attività in una sorgente calda e la PSF del sistema provoca una riduzione dei conteggi misurati rispetto al valore vero, poichè essi vengono in parte distribuiti sui pixel adiacenti alla sorgente stessa. Questo effetto è tanto maggiore quanto più piccola è la dimensione della sorgente e quanto maggiore è la FWHM della PSF. D'altra parte, se si pensa ad una lesione fredda posta in un fondo caldo, lo stesso effetto provocherà una sovrastima dei conteggi reali a causa dello spill-over dell'attività del fondo entro la lesione.

Nel caso delle carotidi, durante il passaggio del bolo di tracciante si ha una elevata attività concentrata in regioni del diametro di circa 7-8 mm e quindi confrontabile con la FWHM della

PSF del tomografo, pertanto l'effetto di PVE non è affatto trascurabile [59]. A tempi successivi, quando l'attività nel sangue si è ridotta e l'uptake cerebrale è divenuto significativo, le carotidi divengono invece una "lesione" fredda entro il tessuto cerebrale caldo: lo spill-in che ne consegue provoca quindi una sovrastima della funzione di input sulla coda a tempi lunghi.

Nel caso di valutazioni del metabolismo di organi o lesioni addominali [60–62], la ROI viene spesso posta sulla aorta addominale o sull'aorta discendente, mentre in valutazioni a livello del torace (es. infiammazione polmonare [63]) e nella valutazioni del metabolismo del miocardio sono generalmente utilizzati l'arco ascendente dell'aorta od il ventricolo o l'atrio sinistro [64–66]. Queste regioni hanno dimensioni maggiori rispetto alle carotidi e risultano quindi meno affette dagli effetti di volume parziale. Rispetto allo spillover, esso può essere ancora rilevante per il ventricolo sinistro, poichè talvolta il muscolo miocardico capta pesantemente FDG, mentre per l'aorta (arco ascendente o addominale) l'effetto è trascurabile, essendo circondata da tessuti con basso uptake di FDG.

Dalla descrizione dei vari metodi di determinazione della Input Function è chiaro che il miglior compromesso tra semplicità della misura ed accuratezza dei risultati è l'utilizzo di funzioni image derived. Tra esse, i risultati migliori sono forniti dall'utilizzo di vasi quali l'arco ascendente dell'aorta che minimizza gli effetti di PVE e spill-in. Purtroppo, in ambito neurologico, questa regione è troppo distante dal cervello per consentire l'imaging simultaneo di  $C_p^*$  e  $C_i^*$  richiesto, ad esempio, per la determinazione dei valori delle singole costanti cinetiche con analisi multiparametrica. D'altra parte possiamo però osservare che i metodi di Patlak e Sokoloff richiedono che solo la funzione di input sia misurata a partire da  $t = 0$ , mentre, per il tessuto cerebrale, basta acquisire i dati a tempi  $t$  sufficientemente lunghi da garantire l'equilibrio degli scambi di tracciante tra i vari compartimenti. Si può allora pensare di spostare il campo di vista assiale della PET durante il corso dell'esame, per acquisire un certo numero di frame dinamiche sul torace e campionare la fase veloce iniziale di  $C_p^*$  in un intervallo  $0 - t_1$ , poi acquisire i dati cerebrali tra  $t_1$  e  $t_2$ , tempi in cui si è raggiunta la condizione di equilibrio, ed infine tornare sul torace tra  $t_2$  e  $t_3$  per campionare la parte terminale lenta della funzione di input e poter interpolare  $C_p^*$  tra  $t_1$  e  $t_2$ .

Relativamente alle nostre conoscenze, una funzione di input image derived ottenuta sull'arco dell'aorta non è mai stata impiegata per la valutazione del CMRGlu, sebbene sia una metodologia ammessa dalle linee guida per la PET cerebrale della *Society of Nuclear Medicine* americana [67].

Nei prossimi capitoli descriveremo l'implementazione di questo protocollo di acquisizione sul tomografo Philips Gemini TF della AOU Careggi e ne valuteremo la fattibilità sulla base dei risultati preliminari prodotti utilizzando la input function aortica nei metodi di Sokoloff e di Patlak per la generazione di mappe parametriche di CMRGlu.

## Capitolo 2

# Materiali e metodi

In questo capitolo descriveremo in dettaglio il protocollo di acquisizione che è stato implementato per campionare la funzione di input sull'arco ascendente dell'aorta ed il modo in cui essa viene utilizzata nella quantificazione del CMRGl<sub>u</sub> tramite i metodi di Sokoloff e di Patlak. Descriveremo, inoltre, le simulazioni numeriche realizzate per la valutazione teorica delle potenzialità di questi due metodi.

### 2.1 Protocollo di acquisizione

Il protocollo di acquisizione proposto in questo lavoro è stato brevemente descritto alla fine del precedente capitolo. In Fig. 2.1 illustriamo nuovamente le sue tre fasi, definite, per semplicità, con i nomi di *AortaPre*, *Brain* e *AortaPost*.

Indichiamo con  $t_0 = 0$  l'istante dell'iniezione. Nella fase *ArtaPre*, che copre l'intervallo temporale  $t_0 - t_1$ , l'acquisizione viene svolta sul torace del paziente; successivamente, il lettino della PET viene velocemente spostato per condurre l'acquisizione cerebrale nella fase *Brain* che copre l'intervallo  $t_1 - t_2$ ; infine, nella fase *AortaPost*, compresa tra  $t_2$  e  $t_3$ , il lettino torna nella posizione assunta durante l'acquisizione *AortaPre*. In questo modo, la misura della funzione di input sull'arco ascendente dell'aorta ha luogo durante gli intervalli  $t_0 - t_1$  e  $t_2 - t_3$ , mentre l'uptake cerebrale viene misurato nell'intervallo  $t_1 - t_2$ , come illustrato con tratto continuo in Fig. 2.1.

In ciascuno dei tre intervalli, per seguire l'andamento delle curve nel tempo, è necessario acquisire la PET in modalità dinamica, producendo, cioè, una serie temporale di immagini PET (o *frame*). La durata di ciascun frame determina il campionamento delle funzioni. Ad esempio, la funzione di input, che presenta uno stretto picco iniziale, necessiterà di frame brevi per i primi minuti, mentre frame progressivamente più lunghi potranno essere usati sulla successiva coda.

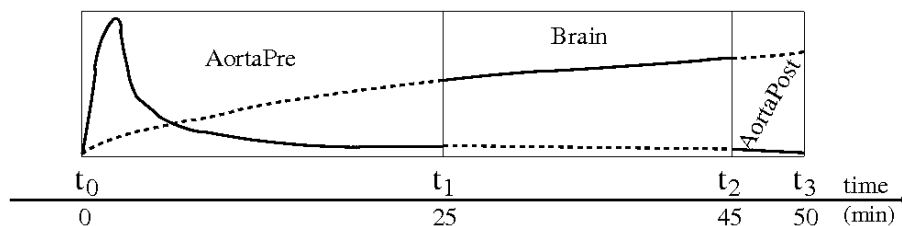


Figura 2.1: Illustrazione del protocollo di acquisizione: con tratto continuo sono riportate le parti delle curve di tempo-attività che vengono misurate con la PET in ciascun intervallo temporale.

Lo schema di campionamento della funzione di input adottato in questo lavoro è ispirato al protocollo proposto da ADNI (Alzheimer’s Disease Neuroimaging Initiative) [68] ed è riportato nei dettagli in Tab. 2.1.

La fase *AortaPre* prevede l’acquisizione di 37 immagini in 25 minuti, con un intervallo di campionamento di 2 sec sul picco e valori via via crescenti per le successive fasi lente. La fase *AortaPost* viene invece acquisita utilizzando 5 frame da 1 min ed ha il solo scopo di consentire l’interpolazione

Sul cervello, l’acquisizione dinamica è strettamente necessaria solo per l’applicazione del metodo di Patlak (ed è stata condotta impiegando 10 frame da 2 min), mentre il metodo di Sokoloff necessita di una sola immagine PET, che sia relativa all’intero intervallo  $t_1 - t_2$  o ad uno qualunque dei frame in cui esso sia stato diviso.

Acquisendo i dati PET in formato *list mode*, la suddivisione degli eventi in frame temporali può essere variata con semplicità in fase di ricostruzione delle immagini, mantenendo fissi solo gli istanti di inizio e fine delle tre fasi di acquisizione. Solo se si desiderano variare posizione e durata delle tre fasi è necessario intervenire sulla procedura di acquisizione. Nel protocollo attuale,  $t_1 = 25$  min e  $t_2 = 45$  min. Questo intervallo per l’acquisizione cerebrale è stato scelto sia perchè confrontabile con i tempi che, in letteratura, sembrano garantire l’equilibrio cinetico tra i compartimenti, che per motivi di ordine pratico. Infatti, poiché la procedura che stiamo descrivendo è ancora sperimentale, si è reso necessario non perturbare il protocollo diagnostico standard sul quale il medico è solito fornire il referto e che prevede l’acquisizione cerebrale con

Fase	Frame	Durata	Tempo parziale	
AortaPre	$1 \times 10''$	10''	10''	37 frame/25 min
	$15 \times 2''$	30''	40''	
	$8 \times 10''$	80''	2'	
	$4 \times 30''$	2'	4'	
	$6 \times 1'$	6'	10'	
	$3 \times 5'$	5'	25'	
Brain	$10 \times 2'$	20'	45'	10 frame/20 min
AortaPost	$5 \times 1'$	5'	50'	5 frame/5 min
TOTALE				52 frame/50 min

Tabella 2.1: Schema riassuntivo dei frame PET dinamici impiegati nelle tre fasi del protocollo di acquisizione.



queste tempistiche.

## 2.2 Processing dei dati

### 2.2.1 Ricostruzione tomografica

La ricostruzione delle immagini tomografiche è stata svolta sulla consolle di elaborazione del sistema PET-CT Philips Gemini TF con i protocolli clinici di routine. In particolare, le immagini cerebrali sono state ricostruite con algoritmo iterativo LOR-RAMLA, mentre le immagini toraciche sono state ricostruite con algoritmo iterativo BLOB-OS-TF. La matrice di ricostruzione è pari a  $144 \times 144 \times 45$  voxels (4 mm di lato) per le immagini toraciche ed a  $128 \times 128 \times 90$  voxels (2 mm di lato) per le immagini cerebrali. Le immagini sono state salvate ed esportate sul PC di elaborazione in formato DICOM.

### 2.2.2 Determinazione della funzione di input image derived

La funzione di input è stata determinata valutando su ciascun frame toracico il numero di conteggi in una regione di interesse (ROI) 3D disegnata in modo manuale dal medico sull'arco dell'aorta. L'operazione di segmentazione della ROI è stata svolta alla consolle di elaborazione Philips utilizzando la fusione dell'immagine CT acquisita immediatamente prima dello scan PET con le immagini PET relative ai primi frame della fase *AortaPre*. In questi frame, infatti, l'elevata attività nel sangue rende ben visibile l'aorta rispetto al fondo.

La statistica nella ROI è stata valutata in tutti i 37 frame della fase *AortaPre* e sui 5 frame della fase *AortaPost* in termini di concentrazione (Bq/ml). Questa valutazione è stata condotta impiegando i tools presenti nel software di analisi della Gemini, i quali forniscono la concentrazione media, quella massima ed il valore "mean-max". In questo ultimo caso, la media viene valutata su gruppi di 4 pixel adiacenti e si seleziona infine il valore massimo tra queste medie. Questa variabile statistica, utilizzata anche nel presente lavoro, ha il vantaggio di limitare gli effetti di volume parziale rispetto all'utilizzo del valore medio, risultando allo stesso tempo meno affetta da rumore rispetto all'utilizzo del valore massimo valutato sui singoli pixel. In [59], dati relativi al tomografo Gemini TF elaborati utilizzando il valore "mean-max" mostrano, infatti, che l'effetto del PVE per sorgenti dell'ordine di 2 cm di diametro è essenzialmente trascurabile. Per questo motivo, nessuna correzione per il PVE è stata applicata alla funzione di input ottenuta come descritto.

La curva  $C_p^*(t)$  così prodotta è stata salvata ed esportata sul PC di elaborazione come semplice file di testo.

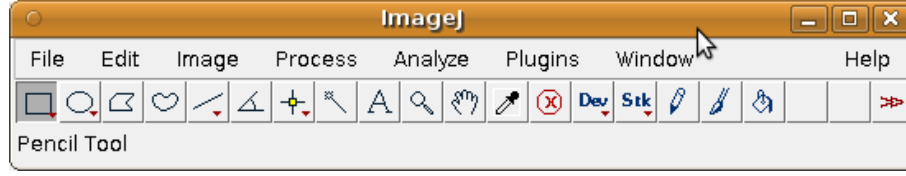


Figura 2.2: ImageJ

### 2.2.3 Analisi con i metodi di Patlak e Sokoloff

Per la realizzazione delle mappe di CMRGlu con i metodi di Patlak e Sokoloff è stato scritto un programma in linguaggio Java che viene avviato come plugin del software *open source* ImageJ [69](Fig. 2.2), noto strumento per una efficace elaborazione ed analisi delle immagini.

Gli opportuni campi dell'*header* DICOM dei dati PET sono utilizzati per ottenere le informazioni relative ai tempi di acquisizione ed alla durata dei singoli frame, alle dimensioni delle matrici ed alla natura del dato contenuto nella matrice. Poiché nel caso dei dati Philips i *pixel values* (PV) rappresentano conteggi grezzi (campo DICOM (0054,1001)=cnts), la conversione in Bq/ml delle immagini cerebrali richiede la seguente trasformazione:

$$PV(\text{Bq/ml}) = [RS \cdot PV(\text{cnts}) + RI] \cdot SF \quad (2.1)$$

dove  $RI$ ,  $RS$  e  $SF$  rappresentano *Rescale Intercept*, *Rescale Slope* e *Scale Factor*, i cui valori sono riportati, rispettivamente, nei campi DICOM (0028,1052), (0028,1053) e (7053,1009).

La funzione di input contenuta nel file di testo prodotto come descritto nella precedente sezione, viene passata al software, il quale procede ad una interpolazione lineare tra la fase finale dei dati *AortaPre* ed i dati *AortaPost*. Nonostante il fatto che il decadimento della funzione sia di tipo esponenziale, la lentezza con cui la curva decresce in questo tratto fa in modo che una semplice interpolazione lineare sia comunque sufficientemente accurata.

Per l'applicazione del metodo di Sokoloff, il software consente di inserire i valori medi delle costanti cinetiche da impiegare. I diversi valori utilizzati in questo studio, al fine di valutare quanto le stime del CMRGlu siano sensibili a questa scelta, sono stati estratti dalla letteratura e saranno presentati nel prossimo paragrafo dedicato alle simulazioni numeriche.

Inoltre, come abbiamo già discusso, il metodo di Sokoloff richiede una sola immagine PET cerebrale. In questo lavoro, l'analisi è stata condotta sull'immagine relativa a tutti i 20 min di acquisizione cerebrale (e non sui singoli frame impiegati nel metodo di Patlak) in modo da avere risultati confrontabili con quelli pubblicati in [2], ove lo stesso metodo è applicato su dati acquisiti per 30 min.

Il metodo di Patlak necessita, invece, di dati cerebrali dinamici per costruire il fit lineare. Poiché il fit viene svolto per ogni singolo voxel dell'immagine PET, il risultato può risentire pesantemente di eventuali movimenti del paziente tra un frame e il successivo, in conseguenza

dei quali lo stesso pixel non contiene sempre lo stesso tessuto. Per questo motivo, la procedura di analisi Patlak prevede uno step intermedio in cui i 10 frame cerebrali vengono tra loro riallineati e salvati in formato Analyze-4D attraverso l'algoritmo *time series registration* di MIPAV [70]. L'immagine Analyze-4D è quella su cui il software di analisi applica il metodo di Patlak.

Il software consente, infine, di inserire i valori della *LC* e della glicemia. Il valore della *LC* impiegato nelle nostre analisi è pari a 0.52, in modo da produrre valori confrontabili con [2]. Il valore della glicemia viene ottenuto mediando due misure, svolte all'inizio ed al termine dell'esame PET, con normali stick glicemici.

## Il Software

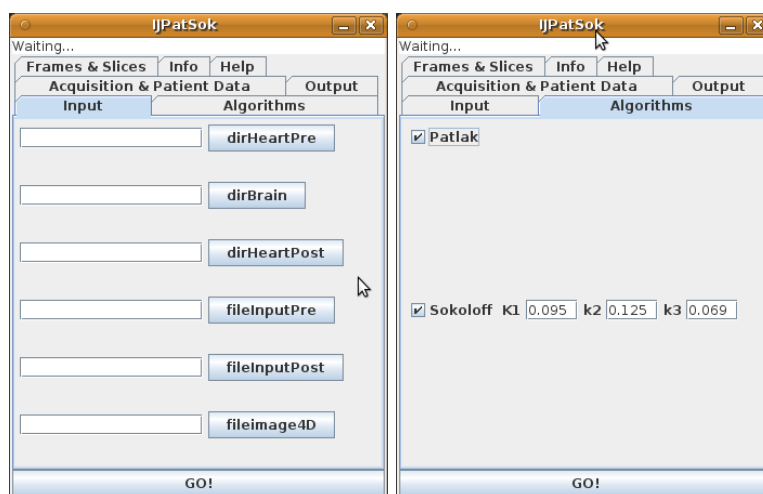
La struttura principale del software è divisa in cinque sezioni:

1. *Input* (Fig. 2.3a): in questa sezione devono essere indicate al software le directory contenenti i dati acquisiti;
2. *Algorithms* (Fig. 2.3b): viene qui indicato al software quali algoritmi utilizzare fra Patlak, Sokoloff o entrambi. In casi di scelta dell'algoritmo Sokoloff devono essere inseriti manualmente i valori delle rate constant da utilizzare;
3. *Acquisition & Patient Data* (Fig. 2.3c): è qui possibile inserire il tempo di ritardo fra l'iniezione del tracciante e il suo arrivo in area cerebrale, la Lumped Constant da utilizzare, la glicemia del paziente e il metodo di integrazione da utilizzare all'interno degli algoritmi;
4. *Frames & Slices* (Fig. 2.3d): possono essere qui indicati i parametri del protocollo di acquisizione, per quanto riguarda il numero di frame e slice acquisite nei tre intervalli di tempo;
5. *Output* (Fig. 2.3e): viene qui indicato quali immagini si desidera visualizzare in output e se effettuare un salvataggio automatico ed eventualmente in quale locazione.

## Pazienti

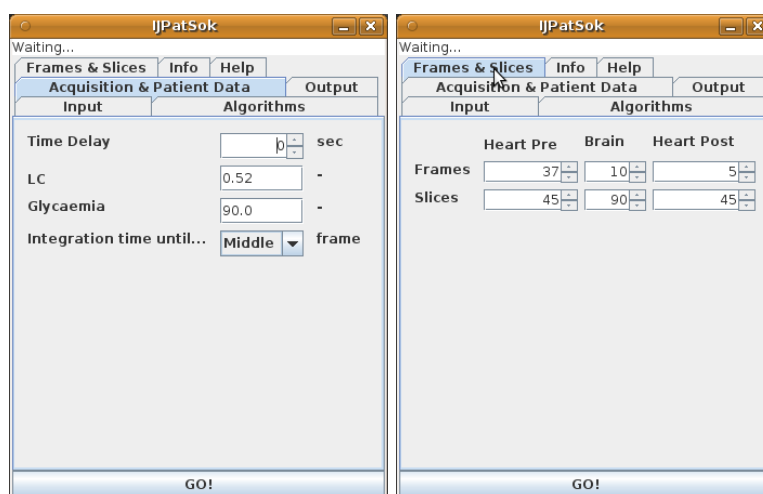
L'analisi descritta è stata finora condotta su dati di 6 pazienti acquisiti presso il nostro dipartimento e caratterizzati da un diverso grado di serietà di compromissione.

I risultati ottenuti con metodi di Sokoloff e di Patlak sono stati confrontati tra di loro e con valori di CMRglu riportati in letteratura considerando 14 volumi di interesse tracciati sulle seguenti regioni: striati destro e sinistro, talami destro e sinistro, lobi frontali destro e sinistro, lobi parietali destro e sinistro, lobi occipitali destro e sinistro, lobi temporali destro e sinistro, cervelletto e materia bianca. Un esempio di queste regioni è illustrato in Fig. 2.4; in Tab. 2.2 riportiamo i volumi (media  $\pm$  standard deviation) delle regioni disegnate per i 6 pazienti.



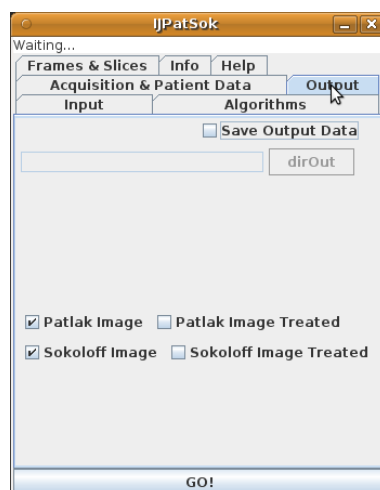
(a) Input

(b) Algorithms



(c) Acquisition &amp; Patient Data

(d) Frames and Slices



(e) Output

Figura 2.3: JPatSok: Il software implementato per la realizzazione delle mappe CMRGluc

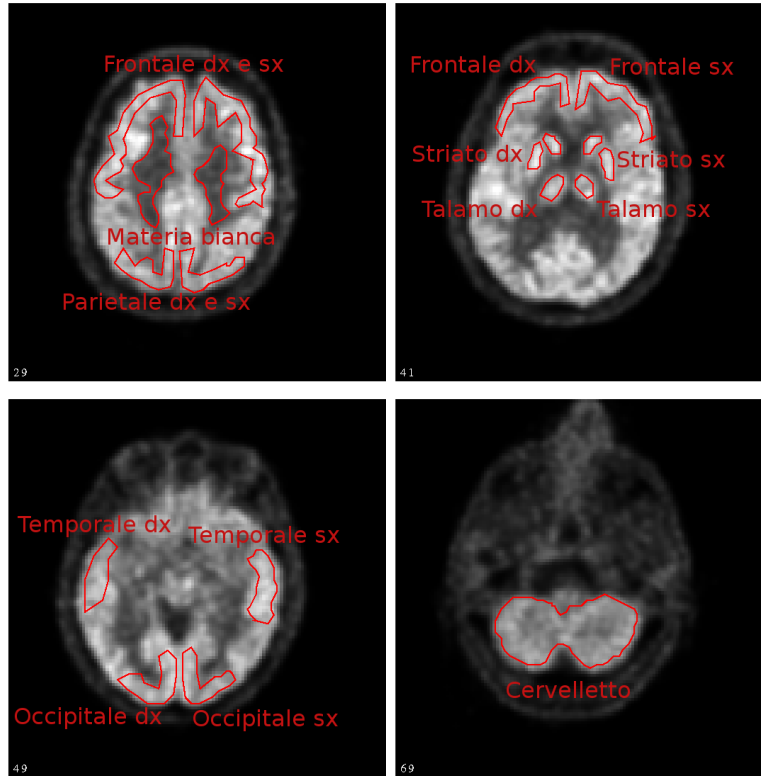


Figura 2.4: Sezioni dei volumi di interesse utilizzati per confrontare i valori medi di CMRGlu prodotti dai metodi di Sokoloff e di Patlak sui pazienti esaminati.

ROI	Volume medio (ml)	$\sigma$ (ml)
Materia bianca	8.04	2.81
Frontale dx	34.67	9.57
Frontale sx	31.94	10.05
Parietale dx	16.45	2.69
Parietale sx	14.73	1.35
Striato dx	4.24	0.53
Striato sx	3.92	0.41
Talamo dx	2.08	0.31
Talamo sx	2.05	0.44
Temporale dx	19.53	9.43
Temporale sx	17.08	11.31
Occipitale dx	10.04	2.52
Occipitale sx	10.58	2.31
Cervelletto	58.91	13.61

Tabella 2.2: Volumi medi e standard deviation delle 14 regioni di interesse prese in esame.

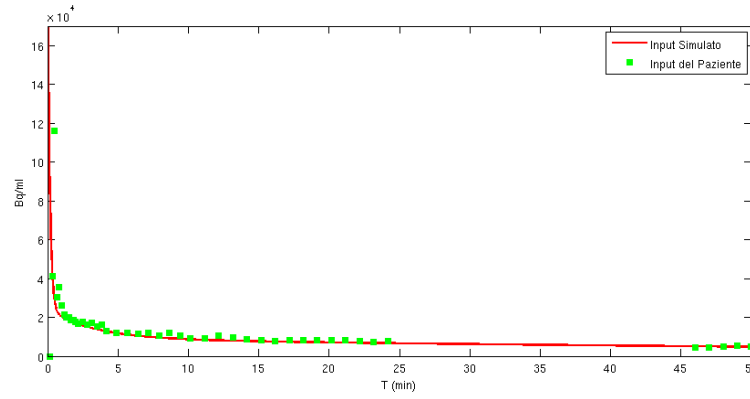


Figura 2.5: Confronto tra la funzione di input simulata ed il campionamento di una curva reale acquisito su un paziente.

## 2.3 Simulazioni numeriche

Nel capitolo introduttivo abbiamo evidenziato i limiti teorici dei metodi di analisi di Sokoloff e Patlak, sottolineando come il primo preveda l'utilizzo di un set di costanti cinetiche scelto a priori e uguale per ogni paziente, tipo di tessuto e stato di malattia, mentre il secondo richieda di verificare l'effettiva linearità del plot, che può essere inficiata dall'assenza di equilibrio o dalla presenza di una  $k_4^*$  non trascurabile. Per entrambi i metodi, la scelta del tempo al quale eseguire la scansione PET può essere di fondamentale importanza per ridurre il bias sulla stima del CMRGl<sub>u</sub>. Le simulazioni numeriche realizzate in questo lavoro mirano, quindi, a stimare l'entità dei potenziali bias prodotti dai due metodi per i tempi di acquisizione previsti dal protocollo, valutando, inoltre, per il metodo di Sokoloff, come le stime varino con la scelta del set di costanti, ed evidenziando, infine, se uno dei due metodi sia preferibile all'altro.

In quanto segue, per semplicità di notazione, trascureremo di inserire l'asterisco nelle grandezze relative al FDG, non costituendo ciò una possibile fonte di confusione, dato che d'ora in poi le grandezze saranno sempre relative al tracciante e non al glucosio semplice.

La funzione di input è stata simulata con una funzione tri-esponenziale come suggerito in [40, 44]:

$$C_p(t) = A_1 e^{-b_1 t} + A_2 e^{-b_2 t} + A_3 e^{-b_3 t} \quad (2.2)$$

dove  $A_1 = 150000$  Bq/ml,  $A_2 = 15000$  Bq/ml ed  $A_3 = 9000$  Bq/ml;  $b_1 = 6.43 \text{ min}^{-1}$ ,  $b_2 = 0.305 \text{ min}^{-1}$  e  $b_3 = 0.0126 \text{ min}^{-1}$ . Questi valori, ottenuti come fit della curva di input di un paziente (Fig. 2.5), risultano confrontabili con quelli riportati in [40, 44].

Utilizzando questa funzione di input, l'uptake cerebrale  $C_i(t)$  è stato poi ottenuto attraverso la (1.10), dove si sono utilizzati i set di costanti cinetiche riportati in [1, 18] e riassunti nelle Tab. 2.3 e 2.4 per la materia grigia (GM) e la materia bianca (WM), rispettivamente. Nelle

GM	3k-models				4k-models	
	REIV85	ROU84	HEI84	LUC93	REIV85-4	PHE79
$K_1$ (ml/min/g)	0.105	0.102	0.088	0.101	0.095	0.102
$k_2$ (min <sup>-1</sup> )	0.148	0.115	0.139	0.071	0.125	0.130
$k_3$ (min <sup>-1</sup> )	0.074	0.037	0.066	0.042	0.069	0.062
$k_4$ (min <sup>-1</sup> )	0	0	0	0	0.0055	0.0068
$k_2 + k_3$ (min <sup>-1</sup> )	0.222	0.152	0.205	0.113	0.194	0.192
$V_2 = K_1/(k_2 + k_3)$ (ml/g)	0.473	0.671	0.429	0.894	0.490	0.531
$V_0 = K_1 k_2/(k_2 + k_3)^2$ (ml/g)	0.315	0.508	0.291	0.562	0.316	0.360
$K_i$ (ml/min/g)	0.0350	0.0248	0.0283	0.0375	0.0338	0.0329

Tabella 2.3: Costanti cinetiche riportate in letteratura per la materia grigia.

WM	3k-models				4k-models	
	REIV85	ROU84	HEI84	LUC93	REIV85-4	PHE79
$K_1$ (ml/min/g)	0.069	0.079	0.055	0.047	0.065	0.054
$k_2$ (min <sup>-1</sup> )	0.129	0.125	0.124	0.070	0.126	0.109
$k_3$ (min <sup>-1</sup> )	0.064	0.032	0.046	0.035	0.066	0.045
$k_4$ (min <sup>-1</sup> )	0	0	0	0	0.0054	0.0058
$k_2 + k_3$ (min <sup>-1</sup> )	0.193	0.157	0.170	0.105	0.192	0.154
$V_2 = K_1/(k_2 + k_3)$ (ml/g)	0.358	0.503	0.323	0.448	0.339	0.351
$V_0 = K_1 k_2/(k_2 + k_3)^2$ (ml/g)	0.239	0.401	0.236	0.298	0.222	0.248
$K_i$ (ml/min/g)	0.0229	0.0161	0.0149	0.0157	0.0223	0.0158

Tabella 2.4: Costanti cinetiche riportate in letteratura per la materia bianca.

tabelle sono riportati anche i valori di alcune combinazioni significative delle costanti cinetiche, quali  $K_i$ ,  $k_2 + k_3$ ,  $V_2$  e  $V_0$ . Per i dettagli del modo in cui le costanti cinetiche sono state misurate dagli autori si vedano i lavori originali: REIV85-3 [1], ROU84 [71], HEI84 [72], LUC93 [18], REIV85-4 [1] e PHE79 [12]. Come si può osservare, sono stati presi in considerazione sia modelli in cui  $k_4 = 0$  che modelli a 4 costanti cinetiche.

L'andamento delle diverse curve cerebrali su un intervallo di 90 min a partire dall'iniezione è illustrato in Fig.2.6. In Fig. 2.7 riportiamo anche l'andamento della concentrazione  $C_E(t)$  nel compartimento dei precursori metabolici e quello della concentrazione  $C_M(t)$  nel compartimento dei metaboliti, ottenuto valutando le Eq. (1.6) e (1.7) .

Ciascun modello cerebrale è stato analizzato col metodo di Patlak e con il metodo di Sokoloff. Nel primo caso, è stato valutato l'andamento della pendenza del plot (1.41) nel tempo, in modo da valutare il bias della stima di  $K_i$  in funzione dell'intervallo temporale sul quale viene svolto il fit lineare. Nel secondo caso, per ciascuna curva prodotta, si è stimato il valore di  $K_i$  utilizzando nella (1.22) tutti i possibili set di costanti, in modo da evidenziare gli errori prodotti dall'utilizzo di costanti diverse da quelle effettive del tessuto in esame. I risultati saranno discussi nel prossimo capitolo.

Osserviamo che, anche nel caso di curve prodotte con  $k_4 \neq 0$ , sono state utilizzate le equazioni di Sokoloff e di Patlak per  $k_4 = 0$  (ovvero le (1.22)-(1.41) . Sono infatti queste le equazioni impiegate usualmente in letteratura, nell'assunzione generale che  $k_4$  sia trascurabile.

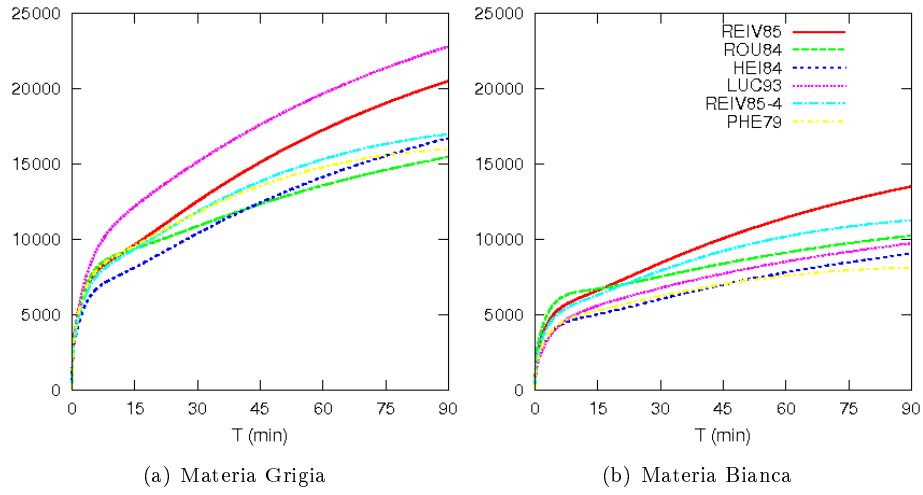


Figura 2.6: Curve di uptake cerebrale nella materia grigia (a) e per la materia bianca (b) per i diversi set di costanti cinetiche in Tab. 2.3 e 2.4.

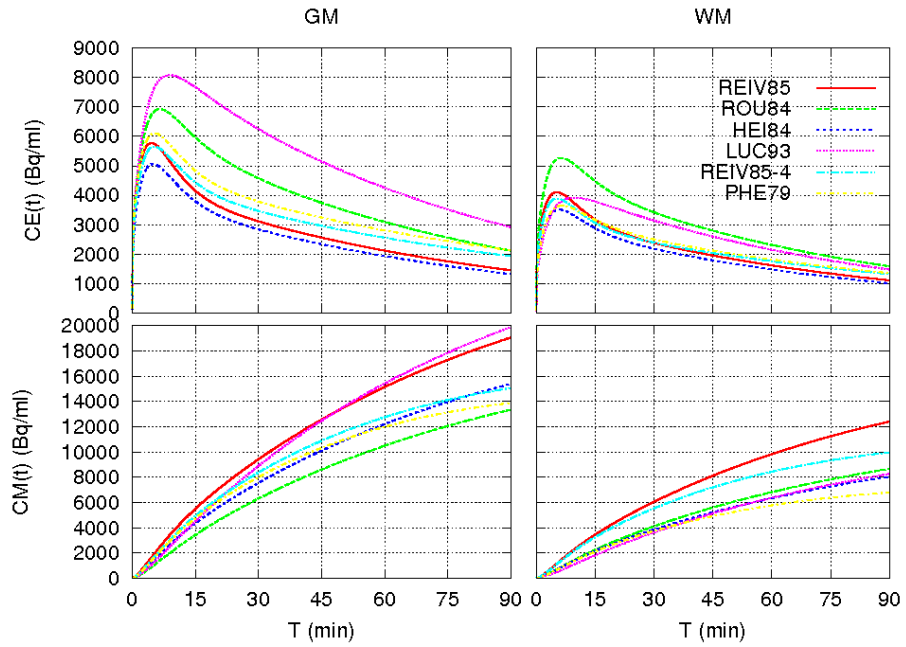


Figura 2.7: Concentrazioni nel compartimento dei precursori metabolici di FDG non legato ( $C_E(t)$ ) ed FDG metabolizzato ( $C_M(t)$ ) per i diversi set di costanti cinetiche in Tab. 2.3 e 2.4.



## Capitolo 3

# Risultati e discussione

In questo capitolo riportiamo e discutiamo i risultati ottenuti nelle simulazioni numeriche e su una prima coorte di 6 pazienti acquisita con il nuovo protocollo quantitativo. L'analisi dei dati simulati precede quella dei dati reali in modo da rendere più immediata la loro comprensione.

### 3.1 Risultati

#### 3.1.1 Simulazioni numeriche

##### Metodo di Sokoloff

Come abbiamo già sottolineato, una potenziale sorgente di bias nelle stime del CMRglu ottenute col metodo di Sokoloff è l'utilizzo di un set di costanti standard non necessariamente uguali alle costanti cinetiche del soggetto in esame. Riportiamo nelle Fig. 3.1, 3.2, 3.3 e 3.4, per ciascun modello di uptake cerebrale (indicato sopra i grafici), le stime di  $K_i$  ottenute in funzione del tempo utilizzando nella (1.22) tutti i set di costanti delle Tab. 2.3 e 2.4. In particolare, nella

		GMrecGM					
Modello reale		Costanti usate nel Sokoloff					
$K_i$	VERO	REIV85-3	ROU84	HEI84	LUC93	REIV85-4	PHE79
REIV85-3	0.0350	0.0350 0.0%	0.0320 -8.6%	0.0361 3.1%	0.0280 -20.0%	0.0351 0.3%	0.0342 -2.3%
ROU84	0.0248	0.0282 13.7%	0.0248 0.0%	0.0293 18.1%	0.0205 -17.3%	0.0281 13.3%	0.0273 10.1%
HEI84	0.0283	0.0273 -3.5%	0.0239 -15.5%	0.0283 0.0%	0.0194 -31.4%	0.0272 -3.9%	0.0264 -6.7%
LUC93	0.0375	0.0435 16.0%	0.0410 9.3%	0.0521 38.9%	0.0375 0.0%	0.0437 16.5%	0.0429 14.4%
REIV85-4	0.0338	0.0321 -5.0%	0.0290 -14.2%	0.0332 -1.8%	0.0248 -26.6%	0.0321 -5.0%	0.0313 -7.4%
PHE79	0.0329	0.0317 -3.6%	0.0285 -13.4%	0.0328 -0.3%	0.0244 -25.8%	0.0317 -3.6%	0.0309 -6.1%

Tabella 3.1: Stime delle  $K_i$  della GM ottenute, a 35 min, con il metodo di Sokoloff e le costanti cinetiche della GM (Tab. 2.3). E'riportato anche il bias percentuale rispetto al valore vero.

WMrecWM							
Modello reale		Costanti usate nel Sokoloff					
	$K_i$ VERO	REIV85-3	ROU84	HEI84	LUC93	REIV85-4	PHE79
REIV85-3	0.0229	0.0229 0.0%	0.0202 -11.8%	0.0239 4.4%	0.0228 -0.4%	0.0233 1.7%	0.0236 3.1%
ROU84	0.0161	0.0189 17.4%	0.0161 0.0%	0.0199 23.6%	0.0184 14.3%	0.0193 19.9%	0.0195 21.1%
HEI84	0.0149	0.0140 -6.0%	0.0111 -25.5%	0.0149 0.0%	0.0129 -13.4%	0.0144 -3.4%	0.0144 -3.4%
LUC93	0.0157	0.0165 5.1%	0.0136 -13.4%	0.0174 10.8%	0.0157 0.0%	0.0169 7.6%	0.0170 8.3%
REIV85-4	0.0223	0.0208 -6.7%	0.0181 -18.8%	0.0218 -2.2%	0.0205 -8.1%	0.0212 -4.9%	0.0215 -3.6%
PHE79	0.0158	0.0145 -8.2%	0.0116 -26.6%	0.0154 -2.5%	0.0135 -14.6%	0.0149 -5.7%	0.0150 -5.1%

Tabella 3.2: Stime delle  $K_i$  della WM ottenute, a 35 min, con il metodo di Sokoloff e le costanti cinetiche della WM (Tab. 2.4). E'riportato anche il bias percentuale rispetto al valore vero.

WMrecGM							
Modello reale		Costanti usate nel Sokoloff					
	$K_i$ VERO	REIV85-3	ROU84	HEI84	LUC93	REIV85-4	PHE79
REIV85-3	0.0229	0.0203 -11.4%	0.0165 -27.8%	0.0213 -7.1%	0.0117 -49.1%	0.0201 -12.2%	0.0192 -16.0%
ROU84	0.0161	0.0164 1.9%	0.0124 -23.0%	0.0173 7.5%	0.0073 -54.7%	0.0161 0.0%	0.0153 -5.0%
HEI84	0.0149	0.0115 -22.8%	0.0074 -50.3%	0.0125 -16.1%	0.0019 -87.2%	0.0112 -24.8%	0.0104 -30.2%
LUC93	0.0157	0.0140 -10.8%	0.0099 -36.9%	0.0149 -5.1%	0.0047 -70.1%	0.0137 -12.7%	0.0129 -17.8%
REIV85-4	0.0223	0.0182 -18.4%	0.0144 -35.4%	0.0192 -13.9%	0.0094 -57.8%	0.0181 -18.8%	0.0172 -22.9%
PHE79	0.0158	0.0120 -24.1%	0.0079 -50.0%	0.0130 -17.7%	0.0025 -84.2%	0.0118 -25.3%	0.0109 -31.0%

Tabella 3.3: Stime delle  $K_i$  della WM ottenute, a 35 min, con il metodo di Sokoloff e le costanti cinetiche della GM (Tab. 2.3). E'riportato anche il bias percentuale rispetto al valore vero.

GMrecWM							
Modello reale		Costanti usate nel Sokoloff					
	$K_i$ VERO	REIV85-3	ROU84	HEI84	LUC93	REIV85-4	PHE79
REIV85-3	0.0350	0.0378 8.0%	0.0356 1.7%	0.0391 11.7%	0.0395 12.9%	0.0383 9.4%	0.0390 11.4%
ROU84	0.0248	0.0309 24.6%	0.0284 14.5%	0.0321 29.4%	0.0317 27.8%	0.0313 26.2%	0.0319 28.6%
HEI84	0.0283	0.0300 6.0%	0.0275 -2.8%	0.0311 9.9%	0.0307 8.5%	0.0304 7.4%	0.0309 9.2%
LUC93	0.0375	0.0465 24.0%	0.0445 18.7%	0.0479 27.7%	0.0491 30.9%	0.0469 25.1%	0.0480 28.0%
REIV85-4	0.0338	0.0349 3.3%	0.0325 -3.8%	0.0361 6.8%	0.0362 7.1%	0.0353 4.4%	0.0360 6.5%
PHE79	0.0329	0.0345 4.9%	0.0321 -2.4%	0.0357 8.5%	0.0357 8.5%	0.0349 6.1%	0.0356 8.2%

Tabella 3.4: Stime delle  $K_i$  della GM ottenute, a 35 min, con il metodo di Sokoloff e le costanti cinetiche della WM (Tab. 2.4). E'riportato anche il bias percentuale rispetto al valore vero.

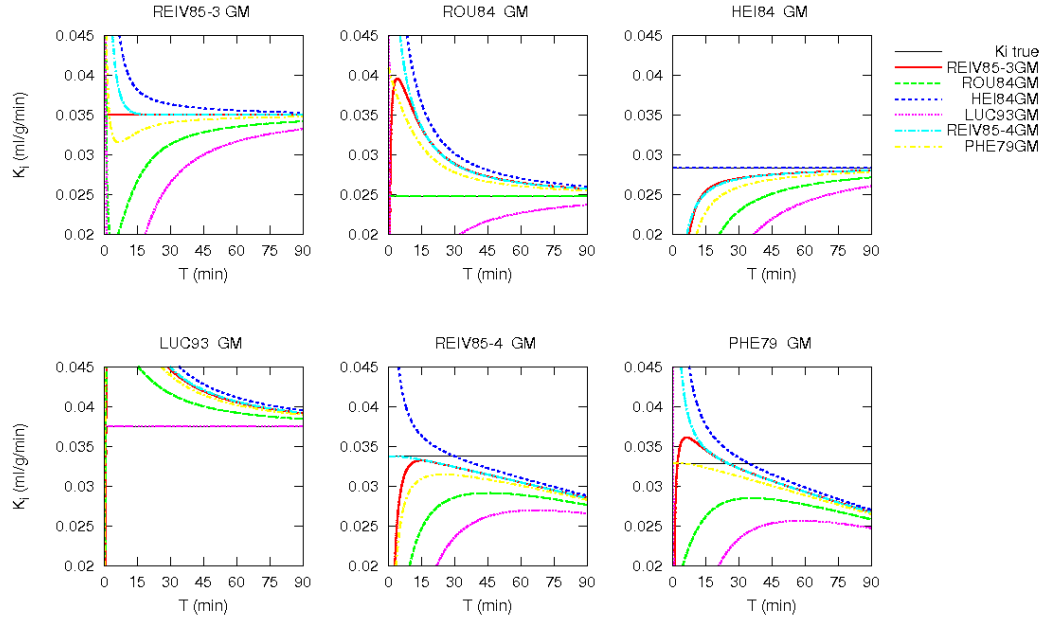


Figura 3.1: GMrecGM: andamento nel tempo delle stime di  $K_i$  ottenute col metodo di Sokoloff per i 6 modelli di GM (Tab. 2.3, riportati sopra ciascun grafico) impiegando nella (1.22) tutti i set di costanti della GM (Tab. 2.3).

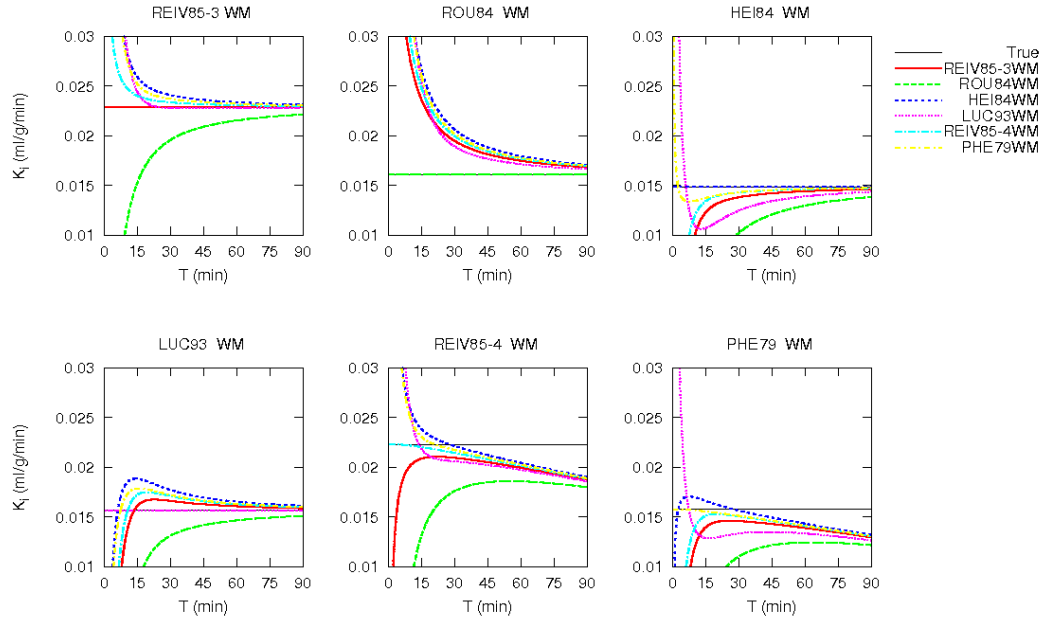


Figura 3.2: WMrecWM: andamento nel tempo delle stime di  $K_i$  ottenute col metodo di Sokoloff per i 6 modelli di WM (Tab. 2.4, riportati sopra ciascun grafico) impiegando nella (1.22) tutti i set di costanti della WM (Tab. 2.4).

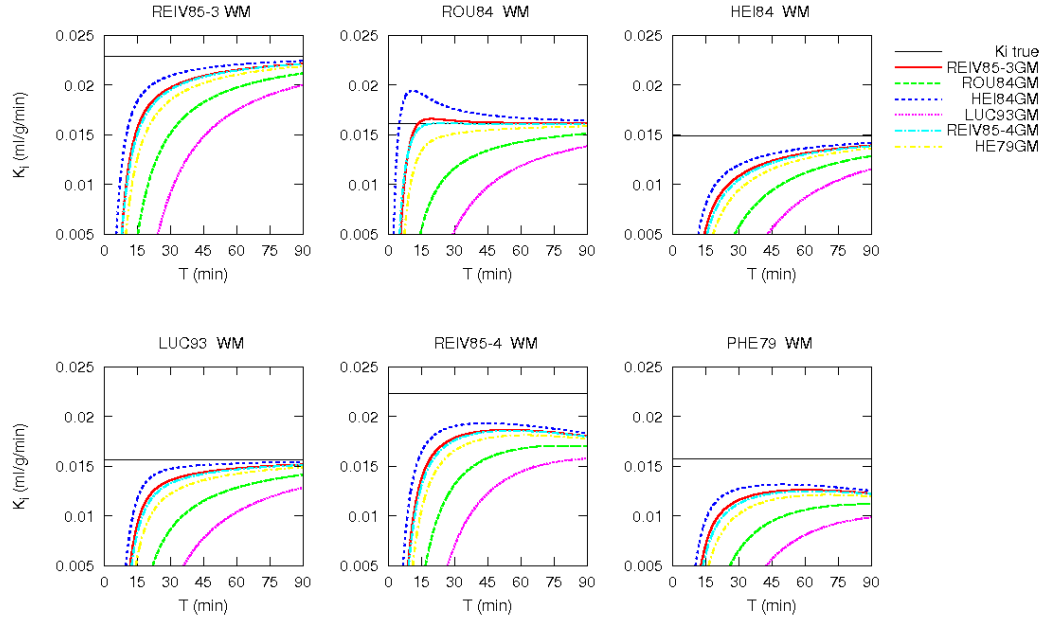


Figura 3.3: WMrecGM: andamento nel tempo delle stime di  $K_i$  ottenute col metodo di Sokoloff per i 6 modelli della WM (Tab. 2.4, riportati sopra ciascun grafico) impiegando nella (1.22) tutti i set di costanti della GM (Tab. 2.3).

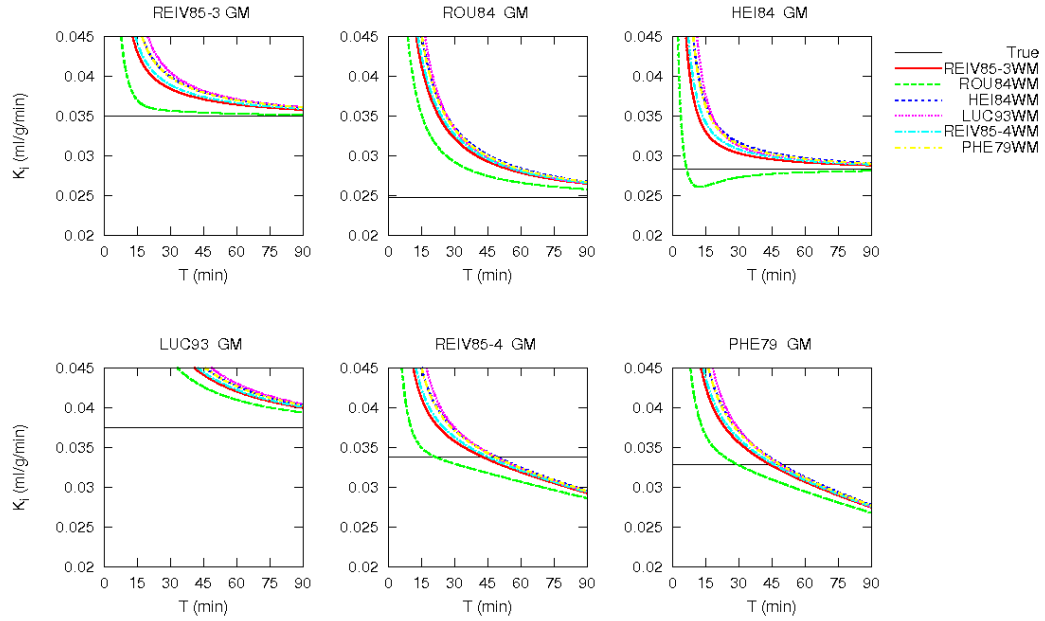


Figura 3.4: GMrecWM: andamento nel tempo delle stime di  $K_i$  ottenute col metodo di Sokoloff per i 6 modelli di GM (Tab. 2.3, riportati sopra ciascun grafico) impiegando nella (1.22) tutti i set di costanti della WM (Tab. 2.4).

figura “GMrecGM” (Fig. 3.1) sono riportate le stime ottenute per i vari modelli di materia grigia (GM) ricostruiti con tutti i set di costanti relativi alla GM (Tab. 2.3) e nella “WMrecWM” (Fig. 3.2) sono riportati i risultati di tutti i modelli assunti per la materia bianca (WM) e ricostruiti con tutti i set di costanti della WM (Tab. 2.4). I casi misti, in cui la WM venga ricostruita con le costanti della GM e viceversa, sono riportati nelle Fig. 3.3 e 3.4, rispettivamente. Il primo di questi casi (Fig. 3.3) è, ad esempio, indicativo del bias che si può riscontrare sulla WM in una immagine parametrica prodotta con un unico set di costanti cinetiche valido per la GM, come quelle che presenteremo nella prossima sezione.

Nelle Tab. 3.1, 3.2, 3.3 e 3.4 che seguono ciascun grafico, sono riportati i valori di  $K_i$  ottenuti con ciascun set di costanti a 35 min dall’iniezione (punto centrale dell’acquisizione cerebrale del protocollo sperimentale valutato in questo lavoro). Si riporta anche il bias percentuale relativo al valore reale di  $K_i$ .

Dall’analisi di questi risultati si evince chiaramente che l’utlizzo di costanti diverse da quelle reali può condurre a bias sulla stima della  $K_i$  e quindi del valore di CMRGlu. Stime unbiased possono essere ottenute solamente utilizzando il reale set di costanti  $K_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$  e  $k_4$  del sistema.

Ricordiamo che in queste simulazioni abbiamo utilizzato un modello di ricostruzione a 3 costanti cinetiche; abbiamo, cioè, assunto  $k_4 = 0$  ed utilizzato la (1.22), essendo questa l’equazione comunemente adottata dai gruppi che applicano il metodo di Sokoloff (in [2], ad esempio, si utilizzano le costanti  $K_1$ ,  $k_2$  e  $k_3$  del set REIV85-4, ma con  $k_4 = 0$ ). Pertanto, nei due casi in cui la vera  $k_4$  è diversa da 0 (REIV85-4 e PHE79) non è mai possibile ottenere stime unbiased di  $K_i$ .

Il bias può essere positivo o negativo e, nel caso in cui sia realmente  $k_4 = 0$ , tende a ridursi al crescere del tempo, come discusso dallo stesso Sokoloff a supporto del suo metodo (si veda il Cap. 1). Nel caso in cui  $k_4 \neq 0$ , assumerla nulla fa sì che il modello impiegato in ricostruzione non segua la progressiva diminuzione di concentrazione cui si assiste nel tessuto cerebrale e, quindi, nel termine  $C_i(t)$  della (1.22), portando ad una sottostima di  $K_i$  che cresce nel tempo. Osserviamo, per inciso, che se si fosse utilizzata la (1.21) con un valore di  $k_4$  superiore al valore vero, il bias sarebbe stato positivo.

Per una maggiore comprensione della natura del bias, è utile cercare di correlare la sua entità con la differenza tra parametri caratteristici dei modelli impiegati in produzione e ricostruzione dei dati cerebrali. Huang [29] suggerisce come parametro chiave il volume di distribuzione del secondo compartimento, che abbiamo indicato con  $V_2 = K_1/(k_2 + k_3)$ . parametro porta ad una correlazione più forte rispetto all’utilizzo della differenza di  $K_i$ , analogamente indagata in [29]. Abbiamo infatti discusso in riferimento alla Fig.3.12 che i due parametri non sono sempre necessariamente correlati. Egli mostra che, come rappresentato nella Fig. 3.5, se il modello adottato dal metodo di Sokoloff ha  $V_2$  maggiore del valore reale, allora il valore di  $K_i$  prodotto dal metodo di Sokoloff tende a sottostimare il vero  $K_i$ . Viceversa, utilizzare un set di

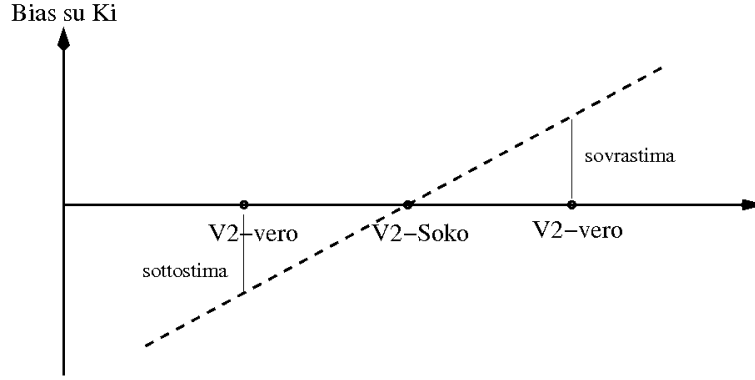


Figura 3.5: Illustrazione della relazione tra il bias riscontrato sulla stima di  $K_i$  ottenuta col metodo di Sokoloff e la differenza del valore di  $V_2$  delle costanti utilizzate dal valore vero.

costanti in cui  $V_2$  sia minore del valore reale, tende a produrre una sovrastima del vero valore di  $K_i$ . Così, se per esempio si considera la Fig. 3.1, nel caso del tessuto descritto dalle costanti HEI84 (che presenta il più basso valore di  $V_2$  tra i set considerati per la GM) si osserva una sistematica sottostima di  $K_i$ , mentre nel caso di un tessuto descritto dal set LUC93 (che ha il più alto valore di  $V_2$ )  $K_i$  è sempre sovrastimato. Con lo stesso principio si possono commentare i risultati illustrati nelle altre figure, tenendo comunque presente che la regola di Huang non è una legge matematica esatta, ma costituisce solamente un'utile regola empirica, valida nella maggior parte dei casi, per valutare l'entità ed il segno degli errori in cui si può incorrere nell'utilizzare il metodo di Sokoloff. Come sottolinea lo stesso Huang, l'errore sulla stima di  $K_i$  può dipendere anche dalla forma della funzione di input e dal tempo al quale si acquisisce lo scan PET, e possono anche esistere set di costanti per le quali la regola non vale più. Per chiarire meglio, abbiamo considerato il set di costanti REIV85-3 come il set reale di un tessuto ed abbiamo, poi, valutato  $K_i$  con il metodo di Sokoloff variando  $K_1$  entro  $K_1^{REIV85-3} \pm 0.60$  (quindi tra 0.045 e 0.165, con step di 0.002) e, contemporaneamente,  $k_2 + k_3$  entro  $(k_2 + k_3)^{REIV85-3} \pm 0.125$  (quindi tra 0.097 e 0.347, con step di 0.005). I limiti considerati sono tali da coprire tutto il range di valori di  $K_1$  e  $k_2 + k_3$  riportato nelle Tab. 2.3 e 2.4. Il valore di  $T$  considerato è pari a 35 min. Nella parte sinistra di Fig. 3.6, per tutte le combinazioni di  $K_1$  e  $k_2 + k_3$ , riportiamo il bias percentuale su  $K_i$  in funzione del bias percentuale su  $V_2$ . Come si può osservare, per la maggior parte dei punti vale la regola di Huang: ad ascisse positive ( $V_2$  usato maggiore del  $V_2$  vero) corrispondono ordinate negative (sottostima di  $K_i$ ) e viceversa. Esistono tuttavia dei punti che cadono nel primo e nel quarto quadrante, anche se dovuti a combinazioni di costanti ai limiti del range in esame. Infatti, come si osserva nella parte destra di Fig. 3.6, se si restringono le variazioni di  $K_1$  e  $k_2 + k_3$  rispettivamente a (0.088-0.110) e (0.112-0.332), comunque tali da coprire le escursioni in Tab. 2.3, questi punti si riducono notevolmente, e quelli residui indicano sostanzialmente stime unbiased.

Due esempi di punti “fuori regola” si possono osservare anche in Fig. 3.3 ed in Fig. 3.4: nella

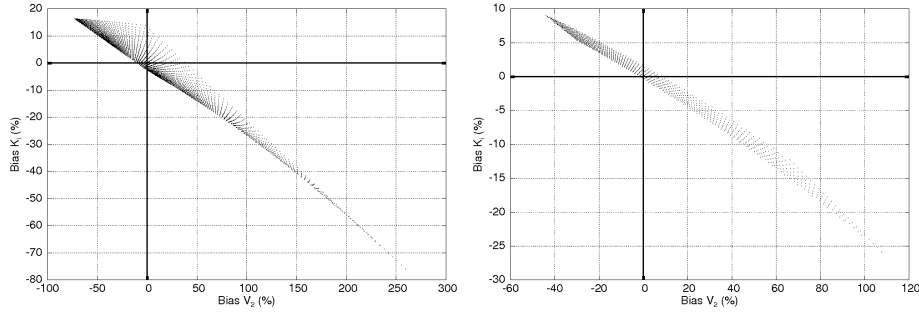


Figura 3.6: Bias su  $K_i$  in funzione del bias su  $V_2$  a 35 min per il modello REIV85-3, impiegando nel metodo di Sokoloff diversi range di valori per  $K_1$  e  $k_2 + k_3$ . A sinistra:  $K_1 = (0.045 - 0.165)$  e  $k_2 + k_3 = (0.097 - 0.347)$ ; a destra  $K_1 = (0.088 - 0.110)$  e  $k_2 + k_3 = (0.112 - 0.332)$

prima, la  $K_i$  del modello LUC93 dovrebbe essere sovrastimata utilizzando le costanti della GM del set HEI84 e, viceversa, nella seconda la  $K_i$  del modello HEI84 dovrebbe essere sottostimata utilizzando le costanti della WM del set LUC93. Le grosse differenze tra i valori di  $K_1$  e  $k_2 + k_3$  nonostante le quali i due set hanno  $V_2$  molto simile<sup>1</sup> provocano questo effetto. Ad esempio, nel primo caso, utilizzare il set di HEI84 (GM) fa in modo che il valore di  $k_2 + k_3$  impiegato sia molto maggiore di quello reale, riducendo il valore del contributo sottratto nel denominatore della (1.22). Lo stesso contributo si trova al numeratore, ma l'elevato valore di  $K_1$  impedisce al numeratore di crescere quanto il denominatore e spinge verso una sottostima del valore di  $K_i$ .

Alla luce di quanto discusso sulla della regola di Huang e confermata, comunque, la sua validità per la maggior parte dei casi, è importante, dal punto di vista operativo, osservare che, se in una immagine parametrica il CMRGlu di tutti i pixel viene calcolato con le costanti della GM, poiché la WM ha tipicamente valori di  $V_2$  minori di quelli della GM, si potrebbe assistere ad una sottostima del vero metabolismo della WM, mentre le strutture della GM saranno più o meno sovra/sottostimate in relazione alla differenza tra le loro costanti e quelle medie impiegate per la GM. In questo modo si falserebbe il reale contrasto tra i due tipi di materia.

Analogamente, maggiore attenzione alla scelta delle costanti andrà usata nei casi di soggetti con forti alterazioni fisiologiche, per i quali utilizzare un set di costanti ottenute su una popolazione di riferimento normale potrebbe condurre ad errori significativi.

### Metodo di Patlak

In Fig. 3.7 riportiamo l'andamento del plot (1.42) per tutte le curve di uptake simulate. Come si può osservare, i plot divengono effettivamente lineari dopo un certo tempo dall'iniezione (il valore riportato in ascissa, pur non essendo un tempo, è comunque una funzione crescente col

<sup>1</sup>Ricordando la definizione di volume di distribuzione di un compartimento, è chiaro che una stessa concentrazione di equilibrio  $C_E$  può essere ottenuta anche alzando notevolmente la fuga  $k_2 + k_3$  purché cresca altrettanto l'ingresso  $K_1$ .

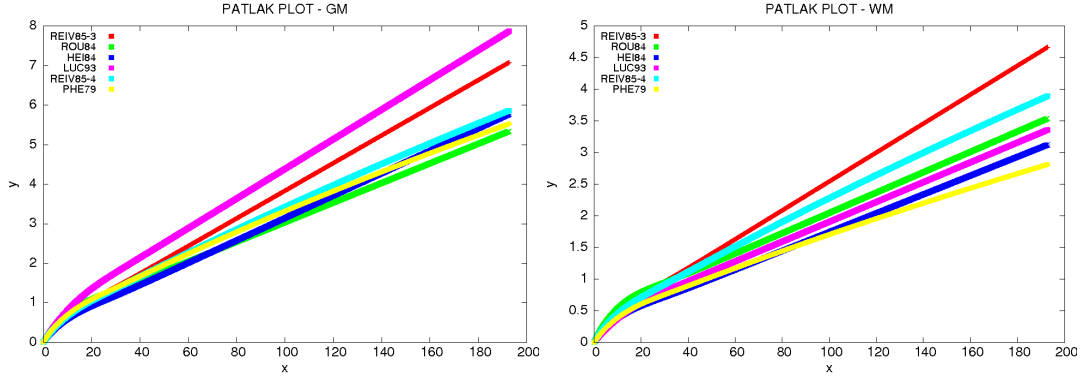


Figura 3.7: Patlak Plot per tutti i set di costanti simulati per la materia grigia e per la materia bianca.

tempo). I valori di  $K_i$  che si ottengono dal fit lineare su intervalli di 20 min a partire da 25, 45 e 65 min dall'istante dell'iniezione sono riportati in Tab. 3.5.

Come si può notare, nel caso  $k_4 = 0$ , le stime sono pressochè unbiased già per i tempi più rapidi presi in esame. Ricordiamo che le simulazioni sono state condotte utilizzando un modello di input coerente con le funzioni prodotte nel nostro centro (Fig. 2.5) e che l'esponente più piccolo,  $b_3$ , nella (2.2) è dell'ordine di  $10^{-2} \text{ min}^{-1}$ . Ricordiamo inoltre che i modelli di uptake considerati hanno valori di  $k_2 + k_3$  dell'ordine di  $10^{-1} \text{ min}^{-1}$ . Evidentemente il fattore 10 tra questi parametri è sufficiente a garantire la validità della (1.35) e produrre quindi una buona linearità già a mezz'ora dall'iniezione. Se consideriamo inoltre che in lavori più recenti [2] sono stati misurati valori ancora più elevati di  $k_2$  e  $k_3$ , l'intervallo temporale scelto per l'acquisizione cerebrale dovrebbe garantire stime unbiased di  $K_i$  per iniezioni in bolo come quelle effettuate al nostro dipartimento.

Nel caso  $k_4 \neq 0$ , i valori di  $K_i$  prodotti dal metodo di Patlak sottostimano, invece, il valore vero. In quest caso, l'ipotesi di tracciante irreversibile su cui si basa il metodo di Patlak non è

	GM				WM			
	$K_i$ vero	25-45 min	45-65 min	65-85 min	$K_i$ vero	25-45 min	45-65 min	65-85 min
REIV3-85	0.0350	0.0349 -0.3%	0.035 -	0.035 -	0.0229	0.0228 -0.4%	0.0229 -	0.0229 -
ROU84	0.0248	0.0245 -1.2%	0.0248 -	0.0248 -	0.0161	0.0158 -1.9%	0.0161 -	0.0161 -
HEI84	0.0283	0.0282 -1.2%	0.0283 -	0.0283 -	0.0149	0.147 -1.3%	0.0149 -	0.0149 -
LUC93	0.0375	0.0374 -0.3%	0.0375 -	0.0375 -	0.0157	0.0157 -	0.0157 -	0.0157 -
REIV4-85	0.0338	0.0300 -11.2%	0.0281 -16.9%	0.0262 -22.5%	0.0223	0.0198 -11.2%	0.0186 -16.6%	0.0173 -22.4%
PHE79	0.0329	0.0283 -14.0%	0.0260 -21.0%	0.0237 -28.0%	0.0158	0.0138 -12.7%	0.0129 -18.4%	0.0119 -24.7%

Tabella 3.5: Stime delle  $K_i$  di GM e WM ottenute con il metodo di Patlak per fit lineari applicato negli intervalli 25-45 min, 45-65 min e 65-85 min. Per ogni stima è riportato anche il bias percentuale rispetto al valore vero.



	GM				WM			
	$V_0$ vero	25-45 min	45-65 min	65-85 min	$V_0$ vero	25-45 min	45-65 min	65-85 min
REIV3-85	0.315	0.343 8.9%	0.334 6.0%	0.334 6.0%	0.239	0.265 10.9%	0.256 7.1%	0.256 7.1%
ROU84	0.508	0.5785 13.8%	0.555 9.3%	0.553 8.9%	0.401	0.455 13.5%	0.437 9.0%	0.436 8.7%
HEI84	0.291	0.320 10.0%	0.310 6.5%	0.310 6.5%	0.236	0.266 12.7%	0.256 8.5%	0.255 8.1%
LUC93	0.562	0.645 14.8%	0.634 12.8%	0.632 12.5%	0.298	0.340 14.1%	0.339 13.8%	0.339 13.8%
REIV4-85	0.316	0.465 47.2%	0.609 92.7%	0.837 164.9%	0.222	0.323 45.5%	0.417 87.8%	0.568 155.9%
PHE79	0.360	0.542 50.6%	0.717 99.2%	0.987 174.2%	0.248	0.342 37.9%	0.413 66.5%	0.533 114.9%

Tabella 3.6: Stime dell'intercetta  $V_0$  di GM e WM ottenute con il metodo di Patlak per fit lineari applicato negli intervalli 25-45 min, 45-65 min e 65-85 min. Per ogni stima è riportato anche il bias percentuale rispetto al valore vero.

più corretta e la presenza di  $k_4$  provoca la curvatura verso il basso del plot e la riduzione della pendenza. L'effetto di  $k_4$  diventa, ovviamente, maggiore a tempi lunghi, pertanto la sottostima della  $K_i$  cresce nel tempo. Per rimediare all'introduzione di questo bias, alcuni autori [73] consigliano di adottare il modello di Patlak reversibile descritto dalla (1.44). Tuttavia per utilizzare questa equazione è necessario adottare a priori il valore di  $k_b$ , poichè esso non è altrimenti desumibile dai dati sperimentali. In questo modo, però, anche nel metodo di Patlak viene introdotto un punto debole analogo a quello individuato nel metodo di Sokoloff e, per questo motivo, questo approccio generalmente non viene seguito.

Relativamente alla intercetta (che nelle simulazioni coincide con  $V_0$ , non essendo stato incluso il contributo di  $V_p$ ) si è riscontrata la sovrastima del valore reale in tutti i modelli simulati, con valori compresi tra il 9 ed il 15% (e che si riducono nel tempo) nel caso di  $k_4 = 0$  e valori fino al 51% (che crescono nel tempo) nel caso di  $k_4 \neq 0$ . Questi risultati sono illustrati in Tab. 3.6.

### 3.1.2 Pazienti

In Fig. 3.8 sono riportate quattro sezioni delle mappe parametriche prodotte per uno dei pazienti con i metodi di Sokoloff e di Patlak.

Come si osserva, le mappe parametriche prodotte col metodo di Patlak sono generalmente più rumorose di quelle ottenute col metodo di Sokoloff. Ciò è dovuto al fatto che il metodo di Sokoloff si limita a “traslare” e “scalare” l'immagine PET originaria (relativa a ben 20 minuti di acquisizione), portandosi dietro le sue caratteristiche di risoluzione e di rumore. Nel metodo di Patlak, invece, per ciascun pixel si esegue un fit lineare su 10 punti temporali, e la mappa parametrica risulta, così, maggiormente influenzata dal rumore presente nei 10 frame. Per confrontare quantitativamente i valori di CMRGlu prodotti dai due metodi, limitando gli effetti dovuti al rumore, risulta quindi più adeguato considerare delle estese regioni di interesse (ROI) che non confrontare i valori dei singoli pixel. Nelle Tab. 3.7, 3.8 e 3.9 riportiamo un confronto

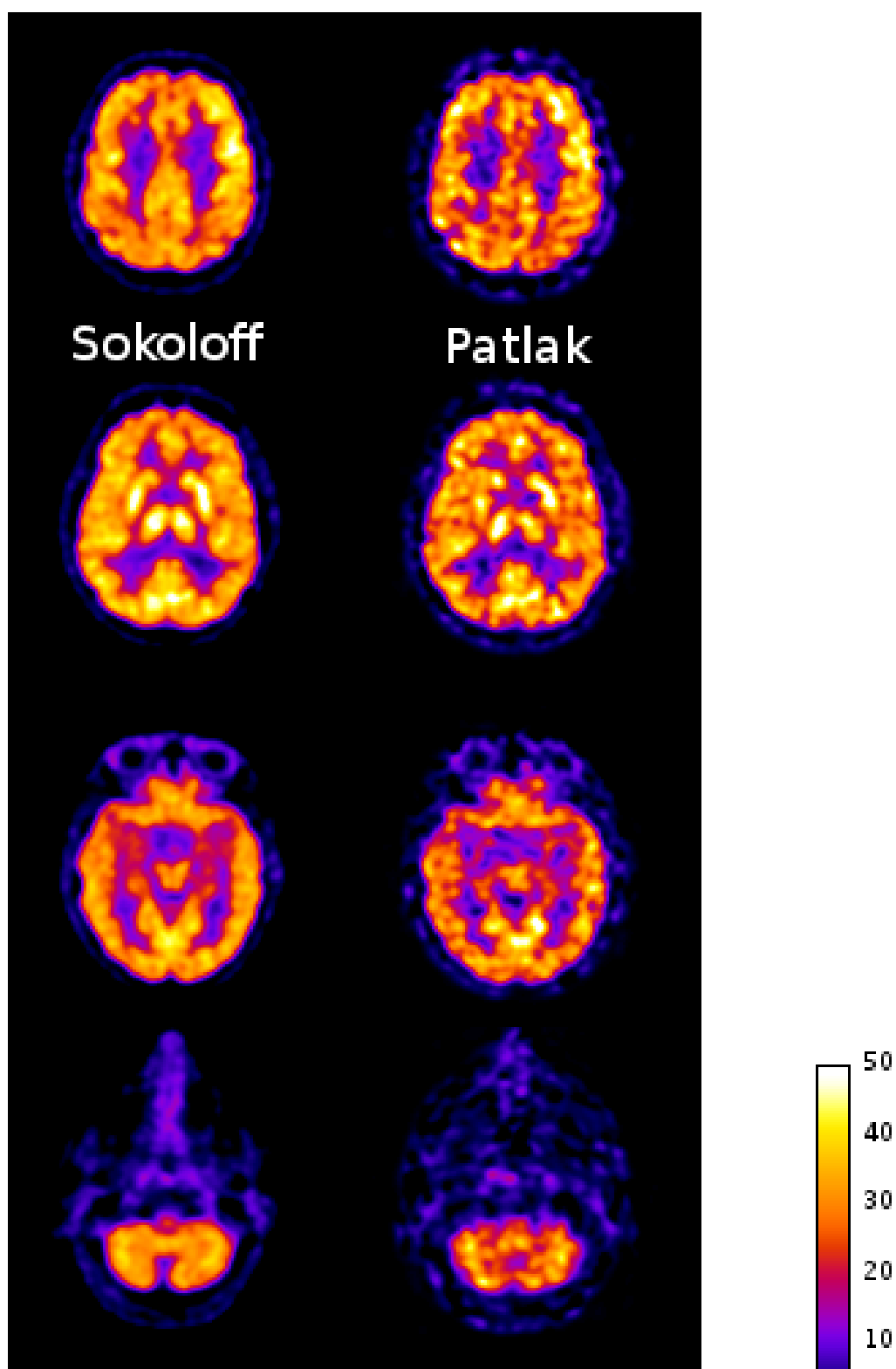


Figura 3.8: Mappe parametriche di CMRGlu ( $\mu\text{mol}/100\text{g}/\text{min}$ ) ottenute col metodo di Sokoloff (sinistra) e col metodo di Patlak (destra) su uno dei pazienti. La mappa riportata per il metodo di Sokoloff è stata ottenuta utilizzando il set di costanti REIV85-3 ( $k_4 = 0$ ) ed un unico frame PET di 20 min.

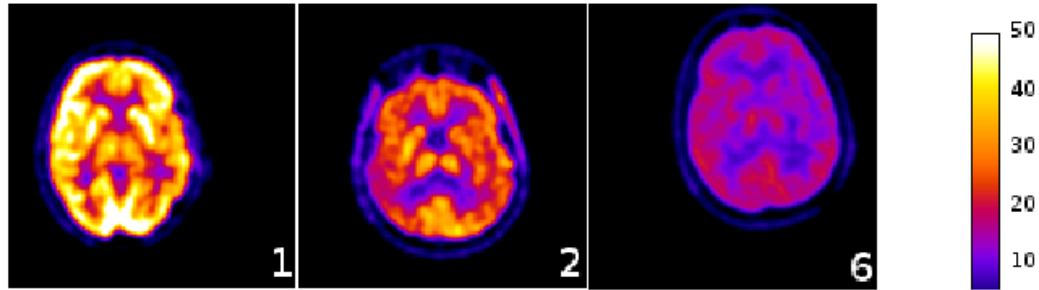


Figura 3.9: Mappe metaboliche dei tre pazienti esemplificativi (ricostruite col metodo di Sokoloff, REIV85-3GM).

di questo genere relativamente alle 14 ROI descritte nel precedente Capitolo per 3 pazienti particolarmente significativi. Una sezione delle loro mappe metaboliche è riportata in Fig. 3.9 per illustrare visivamente il diverso livello di metabolismo nei tre casi. I risultati illustrati per il metodo di Sokoloff sono stati ottenuti con i set della GM (Tab. 2.3), essendo la materia grigia che risulta affetta nel caso delle malattie neurodegenerative e risultando quindi più significativa dal punto di vista clinico.

Nel primo caso (Pz. 1), la valutazione neuropsicologica non ha evidenziato significative alterazioni, se non un decadimento cognitivo lieve, e l'esame PET ha indicato un quadro di metabolismo normale. In questo paziente, che può essere considerato con una buona confidenza un soggetto sano, la nostra analisi ha, infatti, riscontrato i valori di metabolismo più elevati.

Nel secondo caso (Pz. 2), la valutazione neuropsicologica riporta *“la presenza di un disturbo del linguaggio di tipo non fluente, con difficoltà di articolazione, aprassia, agrammatismo, errori fonemici, creazione di neologismi e riproduzione di frammenti, sia nella produzione orale che scritta. Difficoltà nella comprensione orale e scritta per frasi sintatticamente complesse. Acalculia. Il disturbo del linguaggio si inserisce in un complesso quadro clinico-neuropsicologico, caratterizzato dalla presenza di un disturbo ansioso depressivo e dalla compromissione di tutte le funzioni cognitive indagate. Il profilo emerso è compatibile con un deterioramento cognitivo di grado moderato, di probabile natura neurodegenerativa ad esordio frontotemporale”*. Questo quadro clinico è compatibile con bassi valori di metabolismo estesi a tutta la materia grigia ed in particolar modo alle aree frontali e temporali per prime affette dalla malattia. Questo è ciò che in effetti si riscontra nei valori di CMRGlu da noi stimati.

L'ultimo caso (Pz. 6), infine, riguarda un soggetto in stato di coma post anossico in conseguenza di un arresto cardiocircolatorio e, pertanto, con valori di metabolismo estremamente bassi. Anche se i valori del CMRGlu nel caso di malattie neurodegenerative non raggiungono valori così bassi, i dati relativi a questo paziente consentono di estendere l'analisi delle performances del metodo su un range di valori più ampio.

Per completezza, gli altri pazienti considerati nello studio costituivano esempi di: uno stadio iniziale di malattia (Pz. 3), un soggetto con familiarità per l'Alzheimer e disturbi di memoria

Pz. 1	PATLAK	SOKOLOFF					
		REIV85	ROU84	HEI84	LUC93	REIV85-4	PHE79
WM	12.3±6.1	16.2±2.9	13.2± 3.0	16.2±2.9	8.9±3.1	15.6±2.9	15.3±2.9
Frnt dx	41.7±13.2	46.6±5.7	44.8±5.9	46.8±5.8	42.2± 6.2	46.4±5.8	46.1±5.8
Frnt sx	43.0±12.8	47.7±6.2	45.9±6.4	47.9±6.2	43.3±6.7	47.5±6.2	47.2±6.2
Par dx	39.7±11.7	46.7±6.8	44.8±7.0	46.9±6.8	42.2±7.4	46.5±6.8	46.2±6.8
Par sx	39.8±11.4	44.5±6.6	42.5±6.8	44.6±6.6	39.8±7.2	44.2±6.7	43.9±6.7
Str dx	39.9±11.8	45.8±6.4	43.9±6.6	46.0±6.4	41.3±6.9	45.6±6.4	45.3±6.4
Str sx	40.3±11.9	46.4±7.7	44.5±8.0	46.5±7.8	41.9±8.4	46.1±7.8	45.9±7.8
Tal dx	36.1±14.1	44.6±5.6	42.7±5.8	44.7±5.6	39.9±6.1	44.3±5.7	44.1±5.7
Tal sx	39.1±12.5	48.3±7.3	46.6±7.6	48.5±7.4	44.0±8.0	48.1±7.4	47.9±7.4
Tmp dx	30.5±9.7	35.4±7.1	33.1±7.4	35.5±7.2	29.8±7.8	35.0±7.2	34.7±7.2
Tmp sx	26.3±9.5	33.5±5.6	31.1±5.8	33.6±5.6	27.8±6.1	33.1±5.7	32.8±5.7
Occ dx	41.5±9.9	47.4±8.5	45.5±8.8	47.5±8.5	43.0±9.2	47.2±8.6	46.9±8.6
Occ sx	38.8±13.3	44.4±10.1	42.4±10.5	44.5±10.2	39.7±11.0	44.1±10.2	43.8±10.2
Cer	27.1±7.9	33.1±5.7	30.8±6.0	33.2±5.8	27.4±6.3	32.8 ±5.8	32.5±5.8

Tabella 3.7: Valori del CMRGlu (media e standard deviation) nelle 14 ROI per il Pz. 1 stimati con il metodo di Patlak e con il metodo di Sokoloff per tutte le costanti di Tab. 2.3. Questo caso rappresenta un esempio di valori che il protocollo quantitativo proposto può fornire per soggetti sani.

Pz. 2	PATLAK	SOKOLOFF					
		REIV85	ROU84	HEI84	LUC93	REIV85-4	PHE79
WM	15.0±5.2	13.2±2.2	9.9±2.3	13.2±2.2	5.2±2.4	12.6± 2.2	12.3±2.2
Frnt dx	19.8±8.8	26.0± 3.9	23.2 ±4.0	26.1±3.9	19.1±4.2	25.5±3.9	25.2±3.9
Frnt sx	21.2±9.5	27.7±4.1	24.9± 4.2	27.7 ±4.1	20.9±4.4	27.2±4.1	26.9 ±4.1
Par dx	21.1±9.5	26.9± 4.4	24.1±4.5	27.0± 4.4	20.1±4.8	26.4±4.4	26.1±4.4
Par sx	23.6±9.6	30.0±4.9	27.3±5.1	30.0±5.0	23.4±5.4	29.5±5.0	29.2±5.0
Str dx	24.9±11.0	34.1±4.3	31.6±4.5	34.2±4.3	27.9± 4.7	33.7±4.3	33.4±4.4
Str sx	27.7±13.3	33.8±4.8	31.3±5.0	33.9±4.9	27.7± 5.3	33.4±4.9	33.1±4.9
Tal dx	26.6±12.4	32.9±3.7	30.3±3.9	33.0±3.7	26.6±4.1	32.5±3.8	32.2±3.8
Tal sx	28.4±13.3	34.2±4.5	31.6 ±4.7	34.3±4.5	28.0± 4.9	33.8±4.5	33.5±4.5
Tmp dx	16.5±8.5	21.6± 3.3	18.6±3.4	21.6± 3.3	14.3±3.5	21.0±3.3	20.7±3.3
Tmp sx	18.6±9.9	23.6± 4.3	20.7± 4.5	23.7±4.3	16.5±4.7	23.1±4.3	22.8±4.3
Occ dx	28.2±10.5	35.8± 6.0	33.3±6.2	35.9± 6.0	29.8±6.5	35.4±6.1	35.1±6.1
Occ sx	29.5±8.9	35.8± 5.0	33.3±5.1	35.9±5.0	29.7±5.4	35.4±5.0	35.1± 5.0
Cer	22.1±9.9	29.6 ±4.9	26.9±5.1	29.6± 5.0	23.0±5.4	29.1±5.0	28.8±5.0

Tabella 3.8: Valori del CMRGlu (media e standard deviation) nelle 14 ROI per il Pz. 2 stimati con il metodo di Patlak e con il metodo di Sokoloff per tutte le costanti di Tab. 2.3. Questo caso rappresenta un esempio di valori che il protocollo quantitativo proposto può fornire per uno stato avanzato della malattia neurodegenerativa.

Pz. 6	PATLAK	SOKOLOFF					
		REIV85	ROU84	HEI84	LUC93	REIV85-4	PHE79
WM	10.1±2.8	10.2±1.2	7.3±1.2	10.2±1.2	3.2±1.3	9.7±1.2	9.4±1.2
Frnt dx	14.5±3.8	17.0± 1.6	14.3±1.7	17.0±1.6	10.6±1.7	16.5±1.6	16.2±1.6
Frnt sx	14.7±3.8	17.4±1.6	14.8±1.7	17.4±1.6	11.1±1.8	16.9±1.6	16.7±1.6
Par dx	16.7±4.5	19.0±1.7	16.4±1.8	19.0± 1.7	12.8±1.9	18.5±1.7	18.2±1.7
Par sx	16.3±3.7	19.0±1.6	16.4±1.7	19.0±1.6	12.8±1.8	18.6±1.6	18.3±1.6
Str dx	12.8±3.2	17.3±1.3	14.6±1.3	17.3±1.3	10.9± 1.4	16.8±1.3	16.5±1.3
Str sx	14.8±3.0	16.5±1.5	13.8±1.6	16.5±1.5	10.1± 1.7	16.0±1.6	15.7±1.6
Tal dx	15.1±4.0	18.0±1.9	15.4±2.0	18.1±1.9	11.7±2.1	17.6±1.9	17.3±2.0
Tal sx	15.6±3.4	17.5±1.5	14.9 ±1.5	17.5±1.5	11.2± 1.6	17.0±1.5	16.8±1.5
Tmp dx	13.2±3.7	15.2± 2.0	12.4±2.1	15.2± 2.0	8.6±2.2	14.7±2.0	14.4±2.0
Tmp sx	12.7±4.0	15.3± 1.6	12.5± 1.7	15.3±1.6	8.7±1.8	14.8±1.6	14.5±1.6
Occ dx	15.5±4.1	17.6± 2.0	15.0±2.1	17.7± 2.0	11.3±2.2	17.2±2.0	16.9±2.0
Occ sx	14.8±4.0	17.1± 1.9	14.4±2.0	17.1±1.9	10.7±2.1	16.6±1.9	16.3± 1.9
Cer	13.7±3.9	15.4 ±1.9	12.6±1.9	15.4± 1.9	8.8±2.1	14.9±1.9	14.6±1.9

Tabella 3.9: Valori del CMRGlu (media e standard deviation) nelle 14 ROI per il Pz. 6 stimati con il metodo di Patlak e con il metodo di Sokoloff per tutte le costanti di Tab. 2.3. Questo caso illustra i valori che il protocollo quantitativo proposto può fornire per valori di metabolismo estramente basso (coma).

ed orientamento (Pz. 4), ed, infine, una demenza semantica in stato molto avanzato (Pz. 5).

Osservando i dati riportati nelle tabelle, emerge che le stime prodotte dai metodi di Patlak e di Sokoloff sono, nel complesso, confrontabili. Per il metodo di Sokoloff, i valori variano di alcune unità al variare del set di costanti adottato, assumendo sistematicamente il valore più basso per LUC93, per poi salire, nell'ordine, con ROU84, PHE79, REIV85-4, REIV85-3 ed HEI84, come atteso in relazione al diverso valore che  $V_2$  assume per i vari set. I valori prodotti dal Patlak Plot nella materia grigia tendono ad essere generalmente inferiori a quelli prodotti col metodo di Sokoloff, avvicinandosi ad essi solo per il set LUC93 di  $V_2$  più elevato. La correlazione tra le stime prodotte con i due metodi è comunque molto buona per tutti i set di costanti ( $R^2 \geq 0.95$ ), come illustrato in Fig. 3.10, dove i valori di CMRGlu sono plottati per tutte le ROI e per tutti i 6 pazienti. Le barre di errore non sono state riportate per comodità di visualizzazione.

I risultati ottenuti nella materia bianca e per il Pz. 6 richiedono, anche alla luce di quanto discusso nella precedente sezione, considerazioni supplementari. In queste circostanze, come si può osservare dalle tabelle, il metodo di Sokoloff (almeno con alcuni set di costanti) non fornisce più stime sistematicamente maggiori di quelle ottenute con il metodo di Patlak. Bisogna, infatti, ricordare che in questi casi i valori di  $V_2$  potrebbero essere inferiori a quelli tipici della GM nei soggetti sani, principalmente a causa della riduzione della  $K_1$ , che è fisiologicamente giustificata nel caso della WM e legata, invece, allo stato di coma post anossico nel caso del Pz. 6. Sulla base delle simulazioni e dei risultati di Huang [29], è quindi ipotizzabile che il metodo di Sokoloff fornisca stime troppo basse del CMRGlu (in confronto a quelle che fornisce per la GM). Così, ad esempio, per la materia bianca del Pz.2 (ma lo stesso effetto è stato riscontrato negli altri

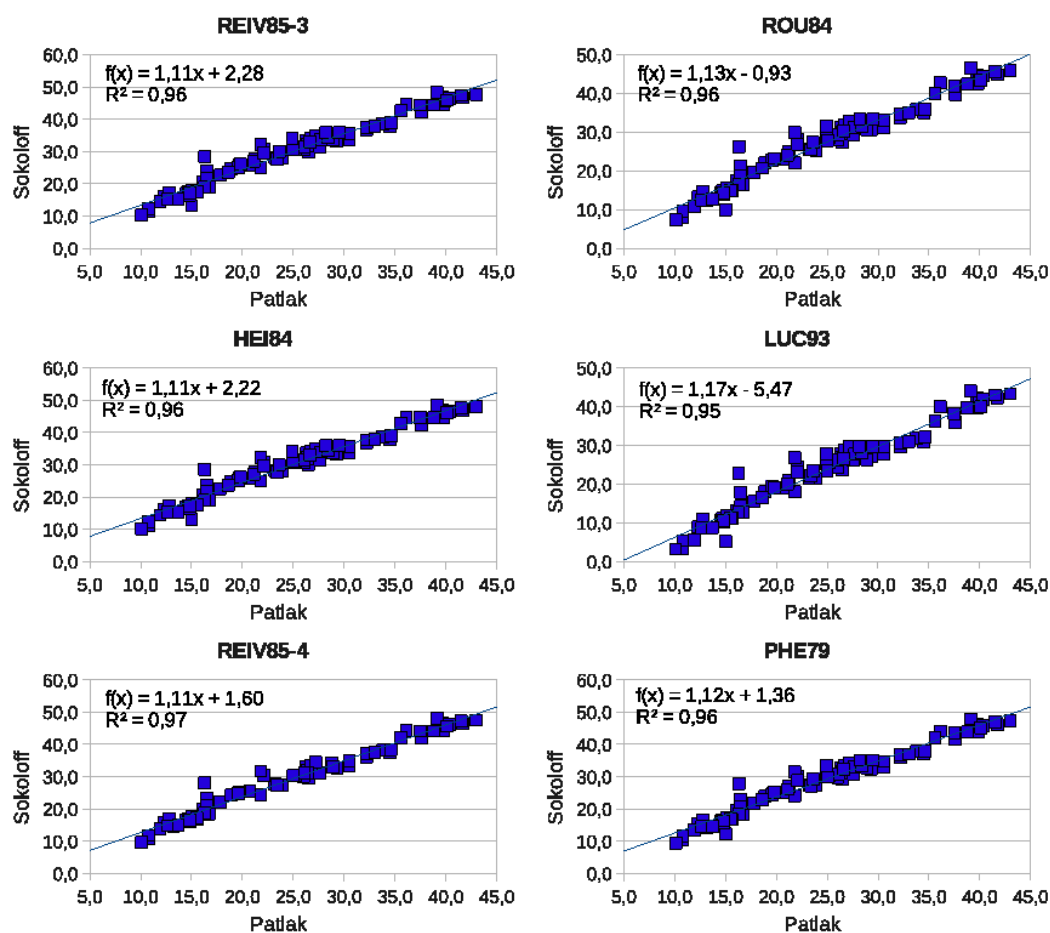


Figura 3.10: Correlazione lineare tra le stime di CMRglu ottenute con i metodi di Sokoloff e di Patlak. Riportiamo i risultati per tutte le 14 ROI analizzate e per tutti i 6 pazienti.

casi patologici 3,4,5 e 6), il valore ottenuto col metodo di Sokoloff diviene persino inferiore a quello ottenuto col metodo di Patlak.

Nel caso del Pz. 6, si possono osservare in particolare i risultati per il set LUC93, che, conducendo al valore di  $V_2$  più elevato e, molto probabilmente, irragionevole per il soggetto in esame, riduce le stime del metodo di Sokoloff fino a renderle sistematicamente inferiori a quelle prodotte dal metodo di Patlak.

Considerando anche altri set di costanti dal  $V_2$  intermedio (ad esempio, REIV85-4, utilizzato anche in [2]), un effetto analogo su WM e Pz. 6 può essere, comunque, evidenziato. In Fig. 3.11 rappresentiamo in blu i punti relativi alla GM dei pazienti 1-5, in rosso i punti della GM del paziente 6 ed in giallo i punti relativi alla WM di tutti i pazienti. Conducendo la regressione sui soli punti blu, i punti gialli e rossi si trovano sistematicamente sotto alla retta, indicando la possibilità che siano

Nell'analisi condotta col metodo di Patlak, non solo la pendenza, ma anche l'intercetta descritta dalla (1.41) e pari a  $V_0 + V_p$  (con  $V_0 = K_1 k_2 / (k_2 + k_3)^2$  e  $V_p$  dell'ordine di 0.05 per tutte le regioni cerebrali) è stata oggetto di indagine, in quanto legata al volume di distribuzione del secondo compartimento,  $V_2 = K_1 / (k_2 + k_3)$ , del quale costituisce un limite inferiore. Riportiamo in Tab. 3.10 i valori medi (e la standard deviation) dell'intercetta ottenuti nelle varie ROI per tutti i 6 pazienti. Questi valori, sebbene affetti da una notevole incertezza, sono comunque ragionevoli se confrontati con i valori di  $V_2$  riportati in letteratura (Tab. 2.3 e 2.4), tendenzialmente inferiori nella WM rispetto alla GM. Infatti, relativamente alla materia grigia, considerando i dati di tutti i pazienti, si ottiene una intercetta media dell'ordine di 0.47 e quindi, sottraendo  $V_p$ , un  $V_0$  dell'ordine di 0.42. Le simulazioni hanno indicato che il metodo di Patlak fornisce stime biased dell'intercetta, con una sovrastima del 10-15% nell'ipotesi di  $k_4 = 0$ , ed

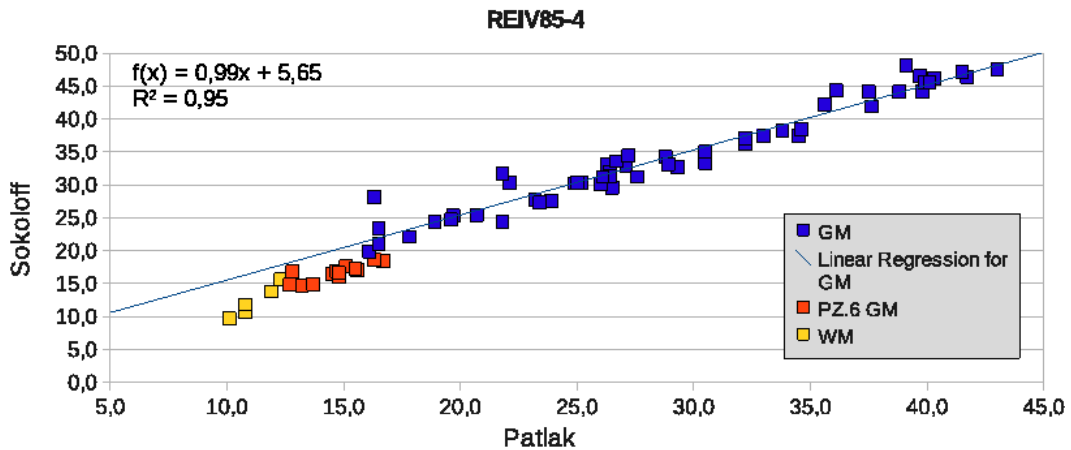


Figura 3.11: Correlazione tra le stime di CMRglu ottenute con i metodi di Sokoloff e di Patlak. In blu sono riportate le stime del CMRglu nella GM dei pazienti 1-5, in rosso i punti della GM del paziente in coma ed in giallo i punti relativi alla WM di tutti i pazienti. La regressione è condotta sui soli punti blu.

ROI	Pz. 1	Pz. 2	Pz. 3	Pz. 4	Pz. 5	Pz. 6
WM	0.48±0.31	0.12±0.27	0.33±0.20	0.34±0.26	0.27±0.23	0.26 ± 0.22
Frnt dx	0.47±0.73	0.53±0.51	0.34± 0.4	0.44±0.49	0.39 ±0.35	0.41±0.30
Frnt sx	0.48±0.75	0.55±0.53	0.4±0.39	0.56±0.49	0.42±0.38	0.42± 0.30
Par dx	0.57±0.57	0.53±0.46	0.45±0.35	0.57±0.51	0.38±0.31	0.36±0.33
Par sx	0.5±0.54	0.55±0.52	0.42±0.4	0.52±0.5	0.41±0.33	0.41±0.30
Str dx	0.44±0.73	0.62±0.58	0.34±0.47	0.56±0.52	0.34±0.48	0.53± 0.26
Str sx	0.39±0.73	0.5±0.67	0.39±0.43	0.54±0.5	0.27±0.42	0.33±0.22
Tal dx	0.64±0.78	0.48±0.69	0.33±0.36	0.74±0.51	0.43±0.28	0.40±0.30
Tal sx	0.55±0.77	0.45±0.62	0.43±0.38	0.87±0.37	0.54±0.35	0.32± 0.28
Tmp dx	0.45±0.5	0.41±0.47	0.46±0.33	0.50±0.43	0.45±0.32	0.34±0.26
Tmp sx	0.56±0.45	0.41±0.54	0.41±0.34	0.45±0.45	0.4±0.26	0.40± 0.30
Occ dx	0.5± 0.45	0.55±0.55	0.42±0.35	0.52±0.5	0.42±0.35	0.34± 0.31
Occ sx	0.45±0.56	0.47±0.54	0.41±0.34	0.53±0.52	0.5±0.3	0.37± 0.33
Cer	0.54±0.39	0.59±0.5	0.48±0.31	0.65±0.40	0.53±0.31	0.32±0.29
GM medio± $\sigma$	0.50±0.07	0.51±0.06	0.41±0.05	0.57±0.12	0.42±0.07	0.38±0.06

Tabella 3.10: Valori medi e standard deviation dell'intercetta valutata per le 14 ROI nei 6 pazienti. E'riportato anche il valor medio nella materia grigia.

anche del 50% se  $k_4 \neq 0$ . Nel primo caso si può quindi stimare un  $V_0$  dell'ordine di 0.37, e dell'ordine di 0.28 nel secondo, comunque confrontabili con i valori di  $V_0$  riportati in Tab. 2.3 ed inferiori ai valori di  $V_2$  riportati in letteratura.

In Fig. 3.12 plottiamo, per ogni paziente, i valori di  $CMRGlu$  ottenuti nelle diverse ROI verso il valore dell'intercetta ottenuta per le stesse regioni. In giallo riportiamo i valori ottenuti nella materia bianca. L'andamento che si osserva è, nel complesso, ragionevole. Il punto relativo alla WM è generalmente caratterizzato (ad eccezione del Pz. 1) da bassi valori di  $CMRGlu$  ( $K_i$ ) e di  $V_0$  (assumendo  $V_p$  costante su tutte le regioni), essenzialmente a causa del ridotto valore di  $K_1$  rispetto alla materia grigia. Nella GM, ad eccezione del Pz. 2, si può osservare una correlazione inversa, seppur debole, tra i valori di  $K_i$  e di  $V_0$ , per la quale le regioni ad alto metabolismo tendono ad avere un  $V_0$  minore. Ciò riflette il fatto che in queste regioni il metabolismo e le sue modificazioni siano principalmente influenzati dalla  $k_3$ , per valori pressoché simili di  $K_1$  e  $k_2$ : al crescere di  $k_3$ ,  $V_0$  (ed analogamente anche  $V_2$ ) si riduce mentre  $K_i$ , invece, aumenta. Si tenga comunque presente che questa interpretazione, seppur ragionevole, può non riflettere la realtà del singolo soggetto e, soprattutto negli stati patologici, le variazioni delle singole costanti possono sovvertire questo andamento, rendendo blanda la correlazione tra  $CMRGlu$  e  $V_0$ . Ad esempio, se il deficit di metabolismo ha una rilevante componente vascolare, la riduzione di  $K_1$  provoca la riduzione simultanea di entrambi i valori. Può essere questo il caso dei due punti relativi alle regioni temporali del Pz. 2 che si discostano dagli altri punti della materia grigia.



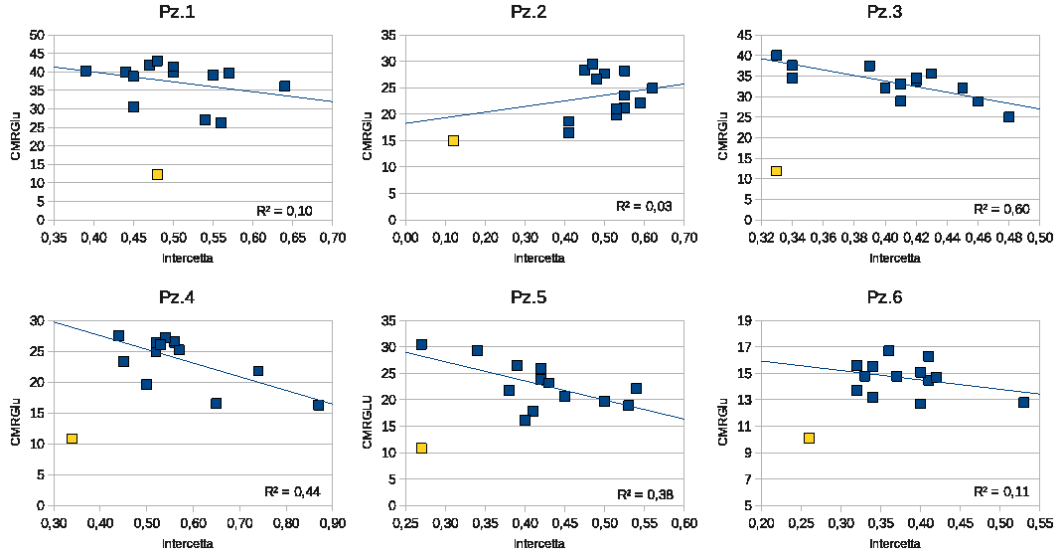


Figura 3.12: Correlazione tra le stime di CMRGlu (in ordinata) e l'intercetta ( $V_0 + V_p$ , in ascissa) ottenute con il metodo di Patlak per le 14 ROI nei 6 pazienti analizzati. In giallo, le stime per la WM ed in blu quelle della GM.

## 3.2 Discussione

Lo scopo di questo lavoro di tesi è la valutazione preliminare della fattibilità di un protocollo di quantificazione del CMRGlu che utilizza una funzione di input *image derived* ottenuta dall'arco ascendente dell'aorta nelle equazioni operazionali di Sokoloff e di Patlak. Inoltre, si propone di confrontare i risultati di questi due metodi di analisi per valutare quale fornisca migliori performances.

Come abbiamo sottolineato nel capitolo introduttivo, il metodo gold standard per la validazione di una procedura di campionamento della funzione di input è il prelievo arterioso, così come l'analisi cinetica completa (con l'esecuzione di fit non lineari per la determinazione delle singole costanti) costituisce, a sua volta, il gold standard convenzionale per i metodi di quantificazione.

Il nostro laboratorio non è attualmente attrezzato per la misura della funzione di input tramite campionamento arterioso, pertanto non è stato possibile comparare il nostro metodo di campionamento con il risultato del metodo gold standard. Inoltre, la natura dei nostri dati, in cui il cervello viene seguito solamente tra 25 e 45 minuti dall'iniezione, non consente l'esecuzione di una analisi cinetica completa, per cui i risultati ottenuti con i metodi di Patlak e di Sokoloff non possono essere confrontati con delle stime ottenute con un metodo di riferimento.

Pur avendo ben presenti queste limitazioni, si può comunque dare una valutazione preliminare della fattibilità del metodo confrontando i risultati ottenuti sui dati dei primi pazienti dei risultati delle simulazioni e con le stime di CMRGlu riportate in letteratura ed ottenute in diverse popolazioni con procedure gold standard. In particolare, può costituire un punto

**Table 2** Regional CMRGlc measures by ROI and analytic method

	AMY	CER	HIP	IPL	LTL	OCC	PCC	PFC	PHG	PON	THAL	WB
<b>KIN</b>												
<b>NL</b>												
Mean	30.7	38.9	32.8	41.8	33.5	42.8	44.5	38.3	30.3	28.6	44.4	32.0
CV (%)	15.7	18.0	14.5	14.9	17.4	18.4	26.5	22.4	14.2	14.9	19.5	16.5
<b>AD</b>												
Mean	23.9*	36.1	23.7**	36.2	29.2	39.8	31.1	34.1	25.8	28.1	40.0	28.1
CV (%)	17.5	20.8	14.8	17.8	14.4	17.6	18.5	19.5	13.2	15.5	19.8	14.3
<b>PAT</b>												
<b>NL</b>												
Mean	22.5	29.3	24.6	32.5	25.2	32.6	35.6	29.8	22.4	22.8	33.2	29.5
CV (%)	20.8	14.7	13.6	24.3	16.4	17.2	22.6	23.5	14.7	25.9	17.4	10.3
<b>AD</b>												
Mean	21.2	29.4	18.5**	28.3	23.2	31.9	27.7*	27.1	21.1	21.3	33.5	26.2
CV (%)	17.8	33.1	13.2	21.8	18.2	20.7	26.0	21.5	13.5	16.3	19.0	16.9
<b>ARG</b>												
<b>NL</b>												
Mean	29.3	39.7	31.0	42.7	32.9	43.5	46.6	38.7	28.8	28.2	45.6	35.3
CV (%)	13.9	15.7	18.0	13.6	14.4	14.2	21.1	19.7	10.6	15.8	13.9	15.7
<b>AD</b>												
Mean	22.3*	37.3	20.9**	35.8	27.7*	40.5	33.8*	33.3	23.8*	26.7	41.8	30.5
CV (%)	19.7	21.5	19.8	18.0	14.8	17.9	23.4	18.7	15.6	15.0	20.3	14.7
<b>PONR</b>												
<b>NL</b>												
Mean	1.04	1.33	1.11	1.14	1.14	1.44	1.46	1.42	1.04	–	1.47	1.25
CV (%)	5.7	5.9	3.9	7.7	7.8	5.4	9.6	5.2	4.5		6.4	6.4
<b>AD</b>												
Mean	0.90**	1.32	0.91**	1.02*	1.01*	1.37	1.19**	1.30	0.95*	–	1.39	1.15
CV (%)	13.3	8.1	9.1	8.2	8.1	8.3	4.9	7.4	8.5		8.5	5.3

Values are mean, CV (%). KIN, PAT, and ARG CMRGlc =  $\mu\text{mol}/100 \text{ g/min}$ ; PONR = unitless

AMY amygdala, CER cerebellum, HIP hippocampus, IPL inferior parietal lobule, LTL lateral temporal lobe, PHG parahippocampal gyrus, OCC occipital cortex, PCC posterior cingulate cortex, PFC prefrontal cortex, PON pons, THAL thalamus, WB whole-brain, – not applicable

\* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$

Figura 3.13: Valori di CMRGlu nella materia grigia misurati in [2] con analisi cinetica completa (KIN), metodo di Sokoloff (ARG) e metodo di Patlak (PAT) a partire da funzione di input ottenuta con prelievi arteriosi.

di riferimento il lavoro di Mosconi [2], in cui sono riportati i valori di CMRGlu di soggetti sani e mild-Alzheimer per diverse regioni cerebrali, ottenuti con funzione di input da prelievo arterioso e diversi metodi di analisi, compresi l'analisi cinetica completa ed i metodi di Patlak e Sokoloff. Sebbene i nostri pazienti non appartengano al gruppo analizzato in [2], la coerenza delle nostre stime con quelle riportate in questo lavoro è certamente indicativa della possibilità di utilizzare la funzione di input aortica nei metodi di Sokoloff e Patlak per la quantificazione del metabolismo del glucosio. Di conseguenza, si potrà procedere ad una valutazione clinica completa su gruppi selezionati di pazienti all'interno di ben strutturati protocolli di ricerca.

Per comodità di confronto, riportiamo in Fig. 3.13 i risultati di Mosconi ottenuti con analisi cinetica completa (KIN), metodo di Sokoloff (qui indicato come autoradiografico, ARG) e metodo di Patlak (PAT) su soggetti normali (NL) e mild-Alzheimer (AD).

Come si può osservare, i valori ottenuti con metodo multiparametrico sono riprodotti in modo sostanzialmente unbiased dal metodo di Sokoloff, che, in questo studio, è stato applicato utilizzando l'equazione per  $k_4 = 0$  (1.22) ed il set REIV85-4 della GM<sup>2</sup>. Il metodo di Patlak

<sup>2</sup>Sicuramente, mediare più soggetti aiuta a ridurre il bias prodotto da un metodo che può potenzialmente sia sovrastimare che sottostimare i valori del singolo: ad esempio, se in Tab. 3.1 consideriamo il valor medio delle vere  $K_i$  ed il valor medio delle stime REIV4 (pari, rispettivamente, a 0.03205 e 0.03298), lo scarto percentuale

produce, invece, stime sistematicamente inferiori<sup>3</sup>. Questo andamento, come già detto, è stato individuato anche nei nostri risultati, anche se dai nostri dati non è possibile stabilire quale dei due metodi fornisca stime più accurate.

Per i soggetti normali, i valori misurati in [2] con metodo cinetico sono compresi tra 30 e 45  $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ , le stime del metodo di Sokoloff oscillano tra 29 e 47  $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$  e quelle del metodo di Patlak tra 22 e 36. Nei malati di Alzheimer, questi intervalli si riducono rispettivamente a 23-40, 21-42 e 18-34  $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ . I coefficienti di variazione sono dell'ordine del 20%.

Se confrontiamo i risultati da noi ottenuti sul Pz. 1 con quelli relativi ai soggetti sani, i valori prodotti con il metodo di Sokoloff (35-48  $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ ) sono decisamente realistici. Il metodo di Patlak, che fornisce valori tra 27 e 43  $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ , sembra fornire, sul Pz. 1, stime leggermente superiori a quelle riscontrate in [2], ma comunque confrontabili, tenendo presenti le fluttuazioni sui valori medi di [2].

Il confronto dei risultati ottenuti sui soggetti patologici (dai quali escludiamo il Pz. 6 che, ovviamente, ha valori di metabolismo non confrontabili con gli altri) è più rischioso dal punto di vista teorico rispetto a quello sui soggetti normali, poichè i valori di CMRGlu dipendono notevolmente dallo stadio della malattia. In [2] i pazienti esaminati sono tutti *mild Alzheimer* e quindi con valori e pattern di metabolismo omogenei. I pazienti da noi esaminati non sono invece omogenei per tipo di disturbo e per fase della malattia. Tuttavia, confrontando i valori misurati (si confrontino, ad esempio, la Tab. 3.8 e le stime del metodo di Patlak, plottate individualmente per tutti i nostri pazienti nella Fig. 3.12) non si evidenziano effetti che mettano in dubbio la veridicità delle stime prodotte dal protocollo proposto.

In conclusione, quindi, l'utilizzo della funzione di input aortica sembra condurre a risultati analoghi a quelli ottenibili con procedure gold standard.

Se assumiamo che i valori KIN di Fig. 3.13 siano realmente stime unbiased del metabolismo, i risultati di Mosconi sembrano indicare che il metodo di Sokoloff è in grado di fornire stime più accurate del Patlak, il quale sottostima poichè, probabilmente, la  $k_4$  non è trascurabile come spesso viene ipotizzato (osserviamo, però, anche, che in [2] non viene riportato l'intervallo temporale sul quale è condotto il fit del Patlak Plot, sebbene sia questo un parametro determinante per il bias delle stime). Nel metodo di Sokoloff, le costanti REIV85-4 sembrano, invece, adeguate a riflettere quelle della popolazione. In realtà, per essere precisi, considerando il fatto che la presenza di  $k_4$  riduce le stime anche nel metodo di Sokoloff, il valore di  $V_2 = 0.490$  di REIV85-4 dovrebbe in realtà essere inferiore al valore vero, in modo che  $k_4 \neq 0$  riconduca una sovrastima ad un valore pressochè unbiased. A tale riguardo è curioso commentare il valore di  $V_2$  derivante dai valori delle singole costanti cinetiche ottenute nello stesso lavoro con metodo multiparametrico. I valori medi su tutta la GM sono  $K_1 = 0.11 \text{ ml}/\text{min}/\text{g}$ ,  $k_2 = 0.32 \text{ min}^{-1}$  e

tra le due medie è inferiore al 3%, mentre sul singolo raggiunge anche il 16.5%. In [2], nessuna indicazione è data relativamente al confronto sui singoli soggetti.

<sup>3</sup>Il metodo di Patlak può infatti solo sottostimare il valore vero, se  $k_4 \neq 0$ .

$k_3 = 0.14 \text{ min}^{-1}$ , corrispondente a un  $V_2$  pari a  $0.24 \text{ ml/g}$ , decisamente inferiore al valore del set REIV85-4. In base a quella che abbiamo chiamato la regola di Huang, le costanti REIV85-4 dovrebbero quindi sottostimare fortemente il CMRGlu. La soluzione di questa contraddizione risiede molto probabilmente nel fatto che, come è noto [32], il metodo multiparametrico è in grado di fornire stime accurate della  $K_i$  nel suo complesso, mentre le stime delle singole costanti sono fortemente instabili e dipendenti dal punto iniziale del fit. Ciò fa sì che, paradossalmente, se in [2] fossero state usate le costanti estrapolate dagli stessi dati si sarebbero ottenuti valori di metabolismo decisamente più elevati con il metodo di Sokoloff, poiché gli errori sui singoli parametri che si compensano nel macroparametro  $K_i$  non si compensano, invece, nella equazione di Sokoloff.

Ma lasciamo comunque da parte le considerazioni teoriche, e torniamo a considerare, dal punto di vista pratico il confronto tra le performances dei metodi di Patlak e di Sokoloff, appurato, a questo punto, che la funzione di input campionata sull'arco dell'aorta fornisce una descrizione dell'input confrontabile con quella ottenibile col campionamento arterioso.

I risultati ottenuti sui nostri dati hanno evidenziato che la correlazione tra le stime prodotte da questi due metodi è molto forte, pertanto, in prima analisi, i due metodi possono anche essere ritenuti equivalenti. La scelta dell'uno o dell'altro risulta quindi arbitraria, purchè venga mantenuta costante per tutti i pazienti che si analizzano. Dubbi sull'idoneità del Sokoloff permangono in caso di pazienti con stati di malattia avanzati, per non parlare di situazioni estremamente critiche come lo stato di coma. Un confronto con metodi gold standard per soggetti di questo genere (o, ad esempio, anche sui valori nella WM) non è riportato in [2] che si concentra su soggetti sani e in fase iniziale di malattia. Tuttavia, è vasta la letteratura in cui si pone l'accento sulla possibilità di introdurre un bias non trascurabile in questi casi [28, 29, 32, 72–74], con direzione ed intensità determinate dalle variazioni delle costanti  $K_1$  e  $k_3$  che si riducono all'avanzare della malattia. Di conseguenza, se uno studio quantitativo deve coprire un ampio range di condizioni patologiche, può essere preferibile utilizzare il metodo di Patlak, in cui il bias, se pur presente, può essere considerato costante su tutti i soggetti (nell'ipotesi, da verificare con una ulteriore analisi della letteratura, che la  $k_4$  non vari quanto  $K_1$  e  $k_3$  da soggetto a soggetto e da una condizione fisiologica a un'altra). Il prezzo da pagare è quello di una procedura di acquisizione ed analisi leggermente più complessa, ma comunque facilmente eseguibile con il protocollo proposto in questo lavoro.

Come abbiamo discusso nell'Introduzione, la sintesi del FDG risale ormai a quasi 35 anni fa [5]. Fin dai primi tempi, l'interesse scientifico si era rivolto alla determinazione quantitativa delle costanti che ne descrivono la cinetica, in modo da poter valutare il metabolismo del glucosio in termini di  $\mu\text{mol}$  consumate nell'unità di tempo dall'unità di massa di tessuto [11, 12]. Sembra, quindi, impossibile che l'argomento possa ancora essere di attualità nel 2011.

I metodi di quantificazione del CMRGlu sono, in effetti, stati proposti e validati molti anni fa: il metodo multiparametrico è praticamente nato insieme alla Medicina Nucleare, il metodo

di Sokoloff risale al 1977 ed il Patlak Plot è del 1983. Ma quello che finora è mancato, è la possibilità di realizzare protocolli semplici per l'acquisizione e l'analisi dei dati. Se, quindi, fino a qualche anno fa, la quantificazione restava appannaggio dei centri più avanzati, ove era possibile realizzare la complessa procedura del campionamento arterioso per determinare la funzione di input, adesso le nuove tecnologie ne consentono la misura direttamente sulle immagini.

Nell'ottica di rendere le indagini quantitative di applicazione routinaria, il campionamento arterioso non è certo una soluzione ottimale, oltremodo in pazienti complessi e delicati come quelli affetti da malattie neurodegenerative. Le funzioni di input image derived sono decisamente da preferire, ma acquisizioni dinamiche veloci, con frame della durata di pochi secondi, sono divenute possibili solo con i tomografi delle ultime generazioni, dotate di cristalli sempre più veloci ed efficienti. Solo queste macchine offrono, poi, la possibilità di acquisire i dati in formato list mode, snellendo i protocolli di acquisizione grazie alla possibilità di riorganizzare i dati in frame dinamici in modo estremamente flessibile a posteriori. Anche la fase di ricostruzione delle immagini si è decisamente velocizzata, sia per i nuovi algoritmi sviluppati, che per la presenza, spesso, di sistemi di calcolo parallelo basati su computers sempre più performanti: questo aspetto non è trascurabile quando decine e decine di immagini tridimensionali (52, nel protocollo da noi proposto) devono essere ricostruite per ogni singola indagine clinica.

Altrettanto importanti sono le nuove tecnologie a disposizione per la correzione di tutti quegli effetti che ridurrebbero le potenzialità quantitative delle immagini PET: scatter, attenuazione e PVE.

Ormai le PET non sono più commercializzate come sistemi singoli, ma esistono solamente sistemi ibridi PET-CT. La CT fornisce sicuramente un notevole supporto nella segmentazione delle regioni di interesse, e, in un protocollo come il nostro, consente anche di riposizionare il campo toracico acquisito nella fase finale dell'esame esattamente sopra quello acquisito nei primi minuti. Ma la CT consente anche la correzione per l'attenuazione e, attraverso sofisticati algoritmi che spesso contemplano l'utilizzo di simulazioni Monte Carlo, anche dello scatter.

Il PVE si è sicuramente ridotto nei sistemi moderni, dotati di migliore risoluzione spaziale, anche se, in regioni piccole quali le arterie carotidi, non può dirsi trascurabile. Tuttavia, proprio la possibilità attuale di spostare il lettino del paziente con precisione millimetrica ed in tempi rapidi consente di utilizzare vasi di dimensioni maggiori situati nella regione cardiaca per la determinazione dell'input, muovendo poi il campo di vista sul cervello per la misura dell'uptake.

E' stata, quindi, l'innovazione tecnologica a riportare, dopo tanti anni, lo studio di protocolli per la quantificazione del CMRGl di attualità, rendendo la PET quantitativa non solo fattibile nella routine clinica, ma, ormai, nel mondo medico, un obbligo scientifico e morale. Per questo motivo, sfruttando la tecnologia a nostra disposizione, abbiamo cercato di implementare un protocollo quanto più semplice possibile per rendere concrete, quotidianamente, le idee di Sokoloff, Phelps e Patlak.

Sulla base dei risultati preliminari presentati in questo lavoro la funzione di input *image derived* ottenuta sull'aorta sembra portare a risultati confrontabili con quelli di letteratura, sia se impiegata entro il metodo di Sokoloff che entro il Patlak Plot. Riteniamo, quindi, che il protocollo proposto abbia le caratteristiche di accuratezza ed, anche, di semplicità per l'applicazione routinaria. Ciò ci incoraggia a proseguire verso la validazione clinica del metodo, attraverso l'acquisizione ed il confronto dei risultati su selezionate, omogenee e statisticamente significative popolazioni di pazienti.

# Bibliografia

- [1] M. Reivich, A. Alavi, A. Wolf, J. Fowler, J. Russell, C. Arnett, R.R. MacGregor, C.Y. Shiue, H. Atkins, A. Anand, R. Dann, and J.H. Greenberg. Glucose metabolic rate kinetic model parameter determination in humans: the lumped constants and rate constants for [18F]fluorodeoxyglucose and [11C]deoxyglucose. *J Cereb Blood Flow Metab*, 5:179–192, 1985.
- [2] L. Mosconi, W.H. Tsui, H. Rusinek, S. De Santi, Y. Li, G.J. Wang, A. Pupi, J. Fowler, and M.J. de Leon. Quantitation, regional vulnerability, and kinetic modeling of brain glucose metabolism in mild Alzheimer’s disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 34:1467–1479, 2007.
- [3] S.S. Gambhir, J. Czernin, J. Schwimmer, D.H.S. Silverman, R.E. Coleman, and M.E. Phelps. A tabulated summary of the FDG PET literature. *J Nucl Med*, 42:1S–93S, 2001.
- [4] C. Nanni, L. Fantini, S. Nicolini, and S. Fanti. Non FDG PET. *Clin Radiol*, 65:536–548, 2010.
- [5] T. Ido, C.N. Wan, and V. Casella. Labeled 2-deoxy-D-glucose analogs. <sup>18</sup>F-labeled 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose, 2-deoxy-2-fluoro-D-mannose and <sup>14</sup>C-2-deoxy-12-fluoro-D-glucose. *J Label Compds Radiopharm*, 24:174–183, 1978.
- [6] R.L. Van Heertum, E.A. Greenstein, and R.S. Tikofsky. 2-deoxy-fluoroglucose positron emission tomography imaging of the brain: current clinical applications with emphasis on the dementias. *Sem Nucl Med*, 34:300–312, 2004.
- [7] L. Mosconi, W.H. Tsui, K. Herholz, A. Pupi, A. Drzezga, G. Lucignani, E.M. Reiman, V. Holthoff, E. Kalbe, S. Sorbi, J. Diehl-Schmid, R. Perneczky, F. Clerici, R. Caselli, B. Beuthien-Baumann, A. Kurz, S. Minoshima, and M.J. de Leon. Multicenter standardized <sup>18</sup>F-FDG PET diagnosis of mild cognitive impairment, Alzheimer’s disease, and other dementias. *J Nucl Med*, 49:390–398, 2008.
- [8] K. Herolz, S.F. Carter, and M. Jones. Positron emission tomography imaging in dementia. *Br J Radiol*, 80:S160–S167, 2007.

- 
- [9] W.D. Heiss, J. Kessler, R. Mielke, B. Szekely, and K. Herholz. Long-term effects of phosphatidylserine, pyritinol, and cognitive training in Alzheimer's disease. A neuropsychological, EEG, and PET investigation. *Dementia*, 5:88–98, 1994.
  - [10] E.K.J. Pauwels, E.J.C. Sturm, E. Bombardieri, F.J. Cleton, and M.P.M. Stokkel. Positron-emission tomography with [18F]fluorodeoxyglucose. Part I. Biochemical uptake mechanism and its implication for clinical studies. *J Cancer Res Clin Oncol*, 126:549–559, 2000.
  - [11] L. Sokoloff, M. Reivich, C. Kennedy, M.H. Des Rosiers, C. S. Patlak, K.D. Pettigrew, O. Sakurada, and M. Shinohara. The [14C]deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory, procedure and normal values in the conscious and anesthetized albino rat. *J Neurochem*, 28:897–916, 1977.
  - [12] M.E. Phelps, S.C. Huang, E.J. Hoffman, C. Selin, M. Sand L. Sokoloff, and D.E. Kuhl. Tomographic measurement of local cerebral glucose metabolic rate in humans with [F-18]2-fluoro-2-deoxy-D-glucose: validation of method. *Ann Neurol*, 6:371–388, 1979.
  - [13] A.A. Lammertsma, D.J. Brooks, R.S.J. Frackowiak, R.P. Beaney, S. Herold, J.D. Heather, A. Palmer, and T. Jones. Measurement of glucose utilisation with [18F]2-fluoro-2-deoxy-D-glucose: a comparison of different analytical methods. *J Cereb Blood Flow Metab*, 7:161–172, 1987.
  - [14] K. Schmidt, G. Lucignani, R.M. Moresco, G. Rizzo, M.C. Gilardi, C. Messa, F. Colombo, F. Fazio, and L. Sokoloff. Errors introduced by tissue heterogeneity in estimation of local cerebral glucose utilization with current kinetic models of the [18F]fluorodeoxyglucose method. *J Cereb Blood Flow Metab*, 12:823–834, 1992.
  - [15] K.C. Schmidt, G. Lucignani, and L. Sokoloff. Fluorine-18-fluorodeoxyglucose PET to determine regional cerebral glucose utilization: a re-examination. *J Nucl Med*, 37(2):394–399, 1996.
  - [16] K. Wienhard. Measurement of glucose consumption using [(18)F]-fluorodeoxyglucose. *Methods*, 27(3):218–225, 2002.
  - [17] Turku PET Centre. [18F]FDG. <http://www.turkupetcentre.net/analysis/doc/tracer/fdg.html>, 2010.
  - [18] G. Lucignani, K.C. Schmidt, R.M. Moresco, G. Striano, F. Colombo, L. Sokoloff, and F. Fazio. Measurement of regional cerebral glucose utilization with fluorine-18-FDG and PET in heterogeneous tissues: theoretical considerations and practical procedure. *J Nucl Med*, 34:360–369, 1993.
  - [19] M.M.Graham, M. Muzi, and A.M. Spence. The FDG lumped constant in normal human brain. *J Nucl Med*, 43:1157, 2002.



- [20] S.G. Hasselbalch, P.L. Madsen, G.M. Knudsen, S. Holm, and O.B. Paulson. Calculation of the FDG lumped constant by simultaneous measurements of global glucose and FDG metabolism in humans. *J Cereb Blood Flow Metab*, 18:154, 1998.
- [21] H.M. Wu, M. Bergsneider, T.C. Glenn, E. Yeh, D.A. Hovda, M.E. Phelps, and S.C. Huang. Measurement of the global lumped constant for 2-deoxy-2-[18F]fluoro-D-glucose in normal human brain using [15O]water and 2-deoxy-2-[18F]fluoro-D-glucose positron emission tomography imaging: a method with validation based on multiple methodologies. *Mol Imaging Biol*, 5:32–41, 2003.
- [22] J.T. Dunn, K. Anthony, S.A. Amiel, and P.K. Marsden. Correction for the effect of rising plasma glucose levels on quantification of MRglc with FDG-PET. *J Cereb Blood Flow Metab*, 29:1059–1067, 2009.
- [23] M. Ichise, J.H. Meyer, and Y. Yonekura. An introduction to PET and SPECT neuroreceptor quantification models. *J Nucl Med*, 42:755–763, 2001.
- [24] H. Watabe, Y. Ikoma, Y. Kimura, M. Naganawa, and M. Shidahara. PET kinetic analysis: compartmental model. *Annals of Nuclear Medicine*, 20:583–588, 2006.
- [25] V.J. Cunningham, E.A. Rabiner, J.C. Matthews, R.N. Gunn, S. Zamuner, and A.D. Gee. Kinetic analysis of neuroreceptor binding using PET. *International Congress Series*, 1265:12–24, 2004.
- [26] Y. Ikoma, H. Watabe, M. Shidahara, M. Naganawa, and Y. Kimura. PET kinetic analysis: error consideration of quantitative analysis in dynamic studies. *Ann Nucl Med*, 22:1–11, 2008.
- [27] C.S. Patlak, R.G. Blasberg, and J.D. Fenstermacher. Graphical evaluation of blood-to-brain transfer constants from multiple-time uptake data. *J Cereb Blood Flow Metab*, 3(1):1–7, 1983.
- [28] S.C. Huang, M.E. Phelps, E.J. Hoffman, K. Sideris, C.J. Selin, and D.E. Kuhl. Noninvasive determination of local cerebral metabolic rate of glucose in man. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 238:E69–E82, 1980.
- [29] S.C. Huang, M.E. Phelps, E.J. Hoffman, and D.E. Kuhl. Error sensitivity of fluorodeoxy-glucose method for measurement of cerebral metabolic rate of glucose. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1:391–401, 1981.
- [30] C.S. Patlak and R. G. Blasberg. Graphical evaluation of blood-to-brain transfer constants from multiple-time uptake data. Generalizations. *J Cereb Blood Flow Metab*, 5:584–590, 1985.

- 
- [31] A. Gjedde, K. Wienhard, W.D. Heiss, G. Kloster, N.H. Diemer, K. Herholz, and G. Pawlik. Comparative regional analysis of 2-fluorodeoxyglucose and methylglucose uptake in brain of four stroke patients. With special reference to the regional estimation of the lumped constant. *J Cereb Blood Flow Metab*, 5:163–178, 1985.
  - [32] K. Wienhard, G. Pawlik, K. Herholz, R. Wagner, and W.D. Heiss. Estimation of local cerebral glucose utilization by positron emission tomography of [18F]2-fluoro-2-deoxy-D-glucose: A critical appraisal of optimization procedures. *J Cereb Blood Flow Metab*, 5:115–125, 1985.
  - [33] L. Eriksson, S. Holte, C. Bohm, M. Kesselberg, and B. Hovander. Automated blood sampling system for positron emission tomography. *IEEE Trans Nucl Sci*, 35(1):703–707, 1988.
  - [34] W.W. Moses. Performance of a coincidence based blood activity monitor. *IEEE Trans on Nucl Sci*, 37(2):580–584, 1990.
  - [35] M.M. Graham and B.L. Lewellen. High-speed automated discrete blood sampling for positron emission tomography. *J Nucl Med*, 34:1357–1360, 1993.
  - [36] R. Hall. Vascular injuries resulting from arterial puncture of catheterization. *Br J Surg*, 58:513–516, 1971.
  - [37] A.P. Van der Weerd, L.J. Klein, C.A. Visser, F.C. Visser, and A.A. Lammertsma. Use of arterialised venous instead of arterial blood for measurement of myocardial glucose metabolism during euglycaemic-hyperinsulinaemic clamping. *Eur J Nucl Med Mol Imag*, 29:663–669, 2002.
  - [38] S. Takikawa, V. Dhawan, P. Spetsieris, W. Robeson, T. Chaly, R. Dahl, D. Margouleff, and D. Eidelberg. Noninvasive quantitative fluorodeoxyglucose PET studies with an estimated input function derived from a population-based arterial blood curve. *Radiol*, 188:131–136, 1993.
  - [39] R.L. Phillips, C.Y. Chen, D.F. Wong, and E.D. London. An improved method to calculate cerebral metabolic rates of glucose using PET. *J Nucl Med*, 36:1668–1679, 1995.
  - [40] G.J. Hunter, L.M. Hamberg, N.M. Alpert, N.C. Choi, and A.J. Fischman. Simplified measurement of deoxyglucose utilization rate. *J Nucl Med*, 37:950–955, 1996.
  - [41] K. Wakita, Y. Imahori, T. Ido, R. Fujii, H. Horii, M. Shimizu, S. Nakajima, K. Mineura, T. Nakamura, , and T. Kanatsuna. Simplification for measuring input function of FDG PET: investigation of 1-point blood sampling method. *J Nucl Med*, 41:1484–1490, 2000.

- [42] D. Feng, S.C. Huang, and X. Wang. Models for computer simulation studies of input functions for tracer kinetic modeling with positron emission tomography. *Int J BioMed Comp*, 32:95–110, 1993.
- [43] S. Eberl, A.R. Anayat, R.R. Fulton, P.K. Hooper, and M.J. Fulham. Evaluation of two population-based input functions for quantitative neurological FDG PET studies. *Eur J Nucl Med Mol Imag*, 24:299–304, 1997.
- [44] D. Vriens, L.F. De Geus-Oei, W.J.G. Oyen, and E.P. Visser. A curve-fitting approach to estimate the arterial plasma input function for the assessment of glucose metabolic rate and response to treatment. *J Nucl Med*, 50:1933–1939, 2009.
- [45] T. Tsuchida, N. Sadato, Y. Yonekura, S. Nakamura, N. Takahashi, K. Sugimoto, A. Waki, K. Yamamoto, N. Hayashi, and Y. Ishii. Noninvasive measurement of cerebral metabolic rate of glucose using standardized input function. *J Nucl Med*, 40:1441–1445, 1999.
- [46] T. Shiozaki, N. Sadato, M. Senda, K. Ishii, T. Tsuchida, Y. Yonekura, H. Fukuda, and J. Konishi. Noninvasive estimation of FDG input function for quantification of cerebral metabolic rate of glucose: optimization and multicenter evaluation. *J Nucl Med*, 41:1612–1618, 2000.
- [47] M. Liptrot, K.H. Adams, L. Martiny, L.H. Pinborg, M.N. Lonsdale, N.V. Olsen, S. Holm, C. Svarer, and G.M. Knudsen. Cluster analysis in kinetic modelling of the brain: a noninvasive alternative to arterial sampling. *NeuroImage*, 21:483–493, 2004.
- [48] Y.H. Fang, T. Kao, R.S. Liu, and L.C. Wu. Estimating the input function non-invasively for FDG-PET quantification with multiple linear regression analysis: simulation and verification with in vivo data. *Eur J Nucl Med Mol Imag*, 31:692–702, 2004.
- [49] M. Naganawa, Y. Kimura, K. Ishii, K. Oda, K. Ishiwata, and A. Matani. Extraction of a plasma time-activity curve from dynamic brain PET images based on independent component analysis. *IEEE Trans Biomed Eng*, 52:201–210, 2005.
- [50] K. Chen, X. Chen, R. Renaut, G.E. Alexander, D. Bandy, H. Guo, and E.M. Reiman. Characterization of the image-derived carotid artery input function using independent component analysis for the quantitation of [18F]fluorodeoxyglucose positron emission tomography images. *Phys Med Biol*, 52:7055–7071, 2007.
- [51] K.H. Su, L.C. Wu, R.S. Liu, S.J. Wang, and J.C. Chen. Quantification method in [18F]fluorodeoxyglucose brain positron emission tomography using independent component analysis. *Nucl Med Commun*, 26:995–1004, 2005.
- [52] P. Zanotti-Fregonara, E.M. Fadaili, R. Maroy, C. Comtat, A. Souloumias, S. Jan, M.J. Ribeiro, V. Gaura, A. Bar-Hen, and R. TrÃ¶bbsen. Comparison of eight methods for the

- estimation of the image-derived input function in dynamic [18F]-FDG PET human brain studies. *J Cereb Blood Flow Metab*, 29:1825–1835, 2009.
- [53] J.E. Litton. Input function in PET brain studies using MR-defined arteries. *J Comput Assist Tomogr*, 21:907–909, 1997.
- [54] K. Chen, D. Bandy, E. Reiman, S.C. Huang, M. Lawson, D. Feng D, L.S. Yun, and A. Palant. Noninvasive quantification of the cerebral metabolic rate for glucose using positron emission tomography, 18F-fluoro-2-deoxyglucose, the Patlak method, and an image-derived input function. *J Cereb Blood Flow Metab*, 18:716–723, 1998.
- [55] B.J. Parker and D. Feng. Graph-based mumford-hah segmentation of dynamic PET with application to input function estimation. *IEEE Trans Nucl Sci*, 52:79–89, 2005.
- [56] P. Zanotti-Fregonara, R. Maroy, C. Comtat, S. Jan, V. Gaura, A. Bar-Hen, M.J. Ribeiro, and R. TrÃfossen. Comparison of 3 methods of automated internal carotid segmentation in human brain PET studies: application to the estimation of arterial input function. *J Nucl Med*, 50:461–467, 2009.
- [57] J.E. Mourik, F.H. van Velden, M. Lubberink, R.W. Kloet, B.N. van Berckel, A.A. Lammertsma, and R. Boellaard. Image derived input functions for dynamic high resolution research tomograph PET brain studies. *Neuroimage*, 43:676–686, 2008.
- [58] M. Soret, S.L. Bacharach, and I. Buvat. Partial-volume effect in PET tumor imaging. *J Nucl Med*, 48:932–945, 2007.
- [59] E. Croteau, E. LavallÃe, S.M. Labbe, L. Hubert, F. Pifferi, J.A. Rousseau, S.C. Cunnane, A.C. Carpentier, R. Lecomte, and F. BÃrnard. Image-derived input function in dynamic human PET/CT: methodology and validation with 11C-acetate and 18F-fluorothioheptadecanoic acid in muscle and 18F-fluorodeoxyglucose in brain. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 37:1539–1550, 2010.
- [60] T. Ohtake, N. Kosaka, T. Watanabe, I. Yokoyama, T. Moritan, M. Masuo, M. Iizuka, K. Kozeni, T. Momose, S. Oku, J. Nishikawa, Y. Sasaki, and M. Iho. Noninvasive method to obtain input function for measuring tissue glucose utilization of thoracic and abdominal organs. *J Nucl Med*, 32:1432–1438, 1991.
- [61] G. Germano, B.C. Chen, S.C. Huang, S.S. Gambhir, E.J. Hoffman, and M.E. Phelps. Use of the abdominal aorta for arterial input function determination in hepatic and renal PET studies. *J Nucl Med*, 33:613–620, 1992.
- [62] L.F. de Geus-Oei, E.P. Visser, P.F.M. Krabbe, B.A. van Hoorn, E.B. Koenders, A.T. Willemsen, J. Pruim, F.H.M. Corstens, and W.J.G. Oyen. Comparison of image-derived

- and arterial input functions for estimating the rate of glucose metabolism in therapy-monitoring 18F-FDG PET studies. *J Nucl Med*, 47:945–949, 2006.
- [63] T. Schroeder, M.F. Vidal Melo, G. Musch, R.S. Harris, J.G. Venegas, and T. Winkler. Image-derived input function for assessment of 18F-FDG uptake by the inflamed lung. *J Nucl Med*, 48:1889–1896, 2007.
- [64] I.N. Weinberg, S.C. Huang, E.J. Hoffman, L. Araujo, C. Nienaber, M. Grover McKay, M. Dahlbom, , and H. Schelbert. Validation of PET-acquired input functions for cardiac studies. *J Nucl Med*, 29:241–247, 1988.
- [65] R.R. Raylman, J.M. Caraher, and G.D. Hutchins. Sampling requirements for dynamic cardiac PET studies using image-derived input functions. *J Nucl Med*, 34:440–447, 1993.
- [66] A.P. van der Weerdt, L.J. Klein, R. Boellaard, C.A. Visser, F.C. Visser, and A.A. Lammertsma. Image-derived input functions for determination of MRGlu in cardiac 18F-FDG PET scans. *J Nucl Med*, 42:1622–1629, 2001.
- [67] A.D. Waxman, K. Herholz, D.H. Lewis, P. Herscovitch, S. Minoshima, M. Ichise, A.E. Drezga, and M.D. Devousand J.M. Mountz. Society of Nuclear Medicine procedure guideline for FDG PET brain imaging. <http://interactive.snm.org/index.cfm?PageID=772>, 2009.
- [68] ADNI. Alzheimer’s Disease Neuroimaging Initiative. <http://www.adni-info.org/Scientists/ProceduresManuals.aspx>, 2011.
- [69] ImageJ. Image processing and analysis in java. <http://imagej.nih.gov/ij/>, 2010.
- [70] MIPAV. Medical Image Processing, Analysis and Visualization. <http://mipav.cit.nih.gov/>, 2010.
- [71] O. Rougemont, J.C. Baron, P. Collard, P. Bustany, O. Comar, and Y. Agid. Local cerebral glucose utilization in treated and untreated patients with Parkinson’s disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 47:824–830, 1984.
- [72] W.D. Heiss, G. Pawlik, K. Herholz, R. Wagner R, H. Goldner, and K. Wienhard. 4 : 2 1 2 223. Regional kinetic constants and cerebral metabolic rate for glucose in normal human volunteers determined by dynamic positron emission tomography of [18F]-2-fluoro-2-deoxy-D-glucose. *J Cereb Blood Flow Metab*, 4:212–223, 1984.
- [73] D. Feng, D. Ho, K. Chen, L.C. Wu, J.K. Wang, R.S. Liu, and S.H. Yeh. An evaluation of the algorithms for determining local cerebral metabolic rates of glucose using positron emission tomography dynamic data. *IEEE Trans Med Imag*, 14:697–710, 1995.

- [74] R.A. Hawkins, M.E. Phelps, S.C. Huang, and D.E. Kuhl. Effect of ischemia on quantification of local cerebral glucose metabolic rate in man. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1:37–51, 1981.